

Klinik für Kleintiermedizin
der Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

Direktorin: Prof. Dr. Claudia Reusch

Arbeit unter Leitung von Dr. Bernhard Gerber

**Zu Vorkommen und Häufigkeit von Glomerulonephritis und
Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* beim Berner Sennenhund**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde der
Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich

vorgelegt von

Simone Eichenberger

Tierärztin
von Trub BE

genehmigt auf Antrag von

Prof. Dr. Claudia Reusch, Referentin

Prof. Dr. Max M. Wittenbrink, Korreferent

Zürich 2005

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung.....	1
1.1	Der Berner Sennenhund.....	1
1.1.1	Häufige Erkrankungen des Berner Sennenhundes.....	1
1.2	Borreliose.....	2
1.2.1	Erreger.....	2
1.2.2	Übertragung und Migration der Borrelien.....	3
1.2.3	Krankheitsverlauf.....	4
1.2.4	Diagnose.....	5
1.2.5	Therapie.....	7
1.2.6	Prophylaxe.....	8
1.2.7	Zoonoserisiko.....	9
1.3	Glomerulonephritis.....	9
1.3.1	Anatomie/Physiologie.....	9
1.3.2	Pathophysiologie.....	10
1.3.3	Klinik.....	11
1.3.4	Diagnose.....	12
1.3.5	Therapie.....	12
1.3.6	Prognose.....	13
1.4	Hypothese.....	13
1.5	Ziele.....	14
2	Material und Methode.....	15
2.1	Hunde.....	15
2.1.1	Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde.....	15
2.1.2	Im Feld untersuchte Kontrollhunde.....	15
2.1.3	An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde.....	16
2.1.4	An der Klinik untersuchte Hunde anderer Rassen mit Proteinurie.....	16
2.2	Probenmaterial.....	16
2.2.1	Gesammeltes Material.....	16
2.2.2	Lagerung und Transport des Probenmaterials.....	16
2.2.2.1	Probenentnahme im Feld.....	16
2.2.2.2	Probenentnahme an der Klinik.....	17
2.2.3	Weiterverarbeitung des Probenmaterials.....	17
2.2.3.1	Hämatologie, Blutchemie.....	17
2.2.3.2	Urinanalyse.....	17
2.2.3.3	Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) für <i>B. burgdorferi</i> Antikörper.....	18
2.2.3.4	Westernblot für <i>B. burgdorferi</i> Antikörper.....	19
2.2.3.5	Antikörper gegen Leptospiren, Mikroagglutinations-Test (MAT).....	20
2.2.3.6	Bakteriologische Untersuchung von Harnproben.....	20
2.2.3.7	Natrium-Dodecyl-Sulfat-Agarose-Gel-Elektrophorese (SDS-AGE).....	20
2.2.3.8	Mikroalbuminurie-Test.....	21
2.3	Statistik.....	22
2.3.1	Anzahl untersuchte Hunde.....	22
2.3.2	Berechnung einer tieferen UPC-Referenzbereichsgrenze.....	22
2.3.3	Auswertung der Daten.....	22
2.3.4	Auswertung der Abstammungsdaten der Berner Sennenhunde.....	23
3	Resultate.....	24
3.1	Hunde.....	24
3.1.1	Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde.....	24
3.1.2	Im Feld untersuchte Kontrollhunde.....	24
3.1.3	An der Klinik untersuchte Hunde.....	24
3.2	Geographische Verteilung der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	24

3.3	Anamnese der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	25
3.4	Hämatologie und Blutchemie der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	25
3.5	Antikörper gegen <i>B. burgdorferi</i>	25
3.5.1	Vergleich mit Antikörpern gegen Leptospiren.....	25
3.5.2	Vergleich zum Westernblot.....	25
3.5.3	Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	26
3.5.4	An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde und andere Hunde mit Proteinurie.....	26
3.5.5	Antikörper gegen <i>B. burgdorferi</i> und Impfung gegen Borreliose.....	26
3.6	Proteinurie.....	26
3.6.1	Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	26
3.6.1.1	Mikroalbuminurie der im Feld untersuchten Hunde.....	27
3.6.1.2	SDS-AGE der Harnproteine der im Feld untersuchten Hunde.....	27
3.6.2	An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde und andere Hunde mit Proteinurie.....	27
3.7	Proteinurie und Antikörper gegen <i>B. burgdorferi</i>	28
3.7.1	Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde.....	28
3.7.2	An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde und andere Hunde anderer Rassen mit Proteinurie.....	28
3.8	Stammbaumanalyse der Berner Sennenhunde.....	28
4	Diskussion.....	29
4.1	Antikörper gegen <i>B. burgdorferi</i>	29
4.1.1	Prävalenz.....	29
4.1.2	Infektionsrate der Zecken.....	29
4.1.3	Zeckenexposition.....	30
4.1.4	Tests für Antikörper gegen <i>B. burgdorferi</i>	31
4.1.5	Immunabwehr.....	32
4.2	Proteinurie.....	32
4.2.1	Protein-Kreatinin-Quotient im Urin (UPC).....	33
4.2.2	Mikroalbuminurie-Test.....	33
4.2.3	SDS-AGE.....	34
4.2.4	Geschlecht.....	34
4.3	Berner Sennenhunde im Feld und Berner Sennenhunde an der Klinik....	35
4.3.1	Häufigkeit von Proteinurie.....	35
4.3.2	Familiäre Glomerulopathie.....	35
4.3.3	Rascher Verlauf der Erkrankung.....	36
4.3.4	Prävalenz von Antikörpern gegen <i>B. burgdorferi</i> bei Hunden an der Klinik.....	36
4.4	Genetische Komponente der Glomerulonephritis der Berner Sennenhunde.....	36
4.5	Gesundheitszustand der Hunde im Feld.....	37
5	Schlussfolgerung.....	38
6	Anhang.....	39
6.1	Fragebogen an die Hundebesitzer.....	39
6.2	Tabellen.....	40
6.3	Abbildungen.....	48
7	Literaturverzeichnis.....	49

Zusammenfassung

Berner Sennenhunde leiden häufiger an Glomerulonephritis als Hunde anderer Rassen. Als Ursache wurde eine Infektion mit *Borrelia burgdorferi sensu lato* vermutet. Das Ziel dieser Studie war es, die Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* und die Häufigkeit von Proteinurie bei Berner Sennenhunden im Vergleich zu Hunden anderer Rassen in der Schweiz festzustellen.

Zwischen Mai 2003 und Mai 2004 wurden von 160 klinisch gesunden Berner Sennenhunden und 62 Kontrollhunden Blutproben auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* und Urinproben auf Proteinurie untersucht. Gleichzeitig wurden alle Berner Sennenhunde und alle Hunde mit Proteinurie, die an der Kleintierklinik der Universität Zürich vorgestellt wurden, untersucht. Zur Untersuchung der Proteinurie wurde ein Protein-Kreatinin-Quotient im Urin, ein Mikroalbuminurie-Test und eine Harnelektrophorese durchgeführt.

Von 160 gesunden Berner Sennenhunden hatten 94 (59%), von den 62 Kontrollhunden 11 (18%) Antikörper gegen *B. burgdorferi*. Eine deutliche Proteinurie wurde bei 3 Berner Sennenhunden festgestellt und bei keinem der Kontrollhunde. Berner Sennenhunde wiesen signifikant häufiger Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf als Hunde anderer Rassen, zeigten aber nicht häufiger eine Proteinurie. Trotzdem waren sie unter den an der Klinik mit Proteinurie vorgestellten Hunden (n=30) mit 12 (40%) signifikant übervertreten. Der Grund dafür ist unklar. Verlaufsstudien könnten einen möglichen Zusammenhang zwischen Glomerulonephritis und *B. burgdorferi* bei Berner Sennenhunden zeigen.

Abstract

Bernese Mountain Dogs suffer more often from glomerulonephritis than dogs of other breeds. *B. burgdorferi sensu lato* was suspected as a cause. The goal of this study was to determine the prevalence of antibodies against *B. burgdorferi* and the occurrence of proteinuria in Bernese Mountain Dogs compared to dogs of other breeds.

Between Mai 2003 and Mai 2004 blood from 160 healthy Bernese Mountain Dogs and 62 control dogs was tested for antibodies against *B. burgdorferi* and urine for proteinuria. At the same time all Bernese Mountain Dogs and all dogs with proteinuria presented to the Clinic for Small Animal Internal Medicine, University of Zurich were examined. To further evaluate proteinuria an in-clinic test for canine microalbuminuria and urine electrophoresis were performed.

Out of the 160 Bernese Mountain Dogs 94 (59%) had antibodies against *B. burgdorferi* and of the 62 control dogs 11 (18%). Overt proteinuria was diagnosed in 3 Bernese Mountain Dogs and in no control dog. Bernese Mountain Dogs had significantly more often antibodies against *B. burgdorferi* compared to dogs of other breeds but proteinuria was not found more often. However in the group of dogs presented to the clinic with proteinuria (n=30) Bernese Mountain Dogs were significantly overrepresented with 12 dogs (40%). The reason for this is not clear. Follow-up studies are needed to establish a possible association between *B. burgdorferi* and glomerulonephritis in Bernese Mountain Dogs.

1 Einleitung

1.1 Der Berner Sennenhund

Im 19. Jahrhundert war der Berner Sennenhund als Bauernhund unter dem Namen Dürrbächler bekannt. Er wurde vor allem als Wach-, Zug- und Treibhund gehalten (Räber, 2001).

Zu Beginn des 20. Jahrhunderts wurde er zum ersten Mal an Ausstellungen vorgeführt. Daraufhin wurde 1907, mit dem Ziel, die Rasse rein zu züchten, der „Schweizerische Dürrbach-Klub“, der heute „Schweizerischer Klub für Berner Sennenhunde“ (SKB) heisst gegründet. Heute ist der Berner Sennenhund weltweit verbreitet und ein beliebter Familienhund, der für verschiedene Hundeformen geeignet ist (Räber, 2001).

1.1.1 Häufige Erkrankungen des Berner Sennenhundes

Im Laufe der Zuchtgeschichte sind beim Berner Sennenhund verschiedene Erkrankungen aufgetreten, die mit der Rasse assoziiert wurden und die zum Teil auch in der Schweiz näher untersucht wurden, wie zum Beispiel Hüft- und Ellbogendysplasie (Bienz, 1985), erhöhte Blutungstendenz (Müller, 1995; Kraus und Johnson, 1998), Epilepsie (Kathmann, 1998), Maligne Histiozytose (Padgett et al., 1995) und Glomerulopathie (Preiss, 1991; Minkus et al., 1994; Reusch et al., 1994).

Ein häufiges Auftreten von Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund wurde 1991 zum ersten Mal an der Universität Zürich beschrieben (Preiss, 1991). In einer retrospektiven Studie über 5 Jahre und einer 14 monatigen, prospektiven Studie wurden Untersuchungen zur Häufigkeit, Ätiologie und Diagnostik der Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund durchgeführt. Die histologischen Untersuchungen der betroffenen Nieren zeigten ein variables Bild der glomerulären Veränderungen vom membranösen, membrano-proliferativen, mesangio-proliferativen und vom chronisch-sklerosierenden Typ. Eine genetische Prädisposition als Ursache für die Nierenerkrankungen konnte mit Stammbaumanalysen weder bewiesen, noch ausgeschlossen werden (Preiss, 1991). In nachfolgenden Studien wurde eine für den Berner Sennenhund typische membranoproliferative Glomerulonephritis mit gleichzeitig auftretender interstitieller Nephritis beschrieben (Minkus et al., 1994; Reusch et al., 1994). Weiter wurde der Verdacht geäußert, dass diese Erkrankung einem autosomal-rezessiven Erbgang mit einem zweiten autosomalen Genloкус, der für das eine Geschlecht dominant und für das andere rezessiv ist, folgt (Minkus et al., 1994; Reusch et al., 1994). Gleichzeitig konnten in den erwähnten Studien bei allen mit Immunfluoreszenz untersuchten Berner Sennenhunden mit Glomerulonephritis Antikörper gegen *Borrelia burgdorferi*, dem Erreger der Lyme-Borreliose, nachgewiesen werden.

1.2 Borreliose

Die Lyme-Borreliose ist laut Berichten aus Amerika, Europa und Asien die am häufigsten diagnostizierte vektorübertragene Erkrankung des Menschen (Greene et al., 1998).

Infektionen betreffen Säugetiere und Vögel. Klinische Symptome entwickeln sich vor allem bei Menschen und Hunden, etwas seltener auch bei Katzen, Pferden und Kühen (Appel und Jacobson, 1995).

1.2.1 Erreger

Borrelien sind wirtsabhängige Bakterien, die zur Familie der Spirochaetaceae gehören. Sie halten sich abwechselnd in Arthropoden und Vertebraten auf und können frei im Wasser oder auf dem Erdboden nicht überleben (Appel und Jacobson, 1995). Im Wirt können sie in einem ungünstigen Milieu vorübergehend eine zystische Form annehmen (Murgia et al., 2002).

Die Erreger der Borreliose gehören der Spezies *Borrelia burgdorferi sensu lato* an. *B. burgdorferi sensu lato* kann aufgrund seiner genetischen Heterogenität bis heute in 10 verschiedene Genospezies unterteilt werden: *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. valaisiana*, *B. lusitaniae*, *B. bissetti*, *B. japonica*, *B. tanukii*, *B. turdi* und *B. andersonii* (Filipuzzi-Jenny et al., 1993; Burkot et al., 1994; Wang et al., 1999).

Die Genospezies von *B. burgdorferi sensu lato* kommen vor allem in den gemässigten Klimazonen vor (Patrican, 1997). Berichte über den Erregernachweis und Erkrankungen an Borreliose stammen vor allem aus Amerika und Europa, etwas seltener auch aus Japan, Australien, Südafrika und China (Ai und Wen, 1988; Jaenson, 1991). Das Vorkommen der einzelnen Genospezies variiert je nach geographischer Lage.

In Europa wurden bis heute 6 Genospezies von *B. burgdorferi sensu lato* aus Zecken isoliert: *B. garinii* (44%), *B. afzelii* (27%), *B. burgdorferi sensu stricto* (19%), *B. valaisiana* (10%) und vereinzelt auch noch *B. lusitaniae* und *B. bissetti*. Es gibt leichte Unterschiede in Bezug auf die Verteilung der Erreger zwischen den einzelnen Ländern (Hubálek und Halouzka, 1997; Saint Girons et al., 1998).

Auch in der Schweiz sind Borrelien weit verbreitet. Bis jetzt konnten *B. garinii*, *B. afzelii*, *B. burgdorferi sensu stricto*, *B. valaisiana* und *B. lusitaniae* isoliert werden (Humair et al., 1995; Péter et al., 1995; Bernasconi et al., 1997; Hubálek und Halouzka, 1997; Saint Girons et al., 1998; Jouda et al. 2004_a). Wie im restlichen Europa dominiert auch hier *B. garinii*, gefolgt von *B. afzelii* und *B. burgdorferi sensu stricto* (Jouda et al., 2003; Jouda et al., 2004_a). Einzig im Kanton Wallis scheint *B. burgdorferi sensu stricto* vorzuherrschen (Péter et al., 1995). *B. valaisiana* konnte bisher nur vereinzelt aus Vögeln und Zecken isoliert werden. Bis heute ist nicht geklärt, ob diese Genospezies auch pathogen ist. *B. lusitaniae* wurde in der Schweiz erst vor kurzem zum ersten mal im Zusammenhang mit einer Studie im Kanton Tessin aus Zecken isoliert (Jouda et al., 2003). Auch in einer anderen Studie aus der Westschweiz, konnte *B. lusitaniae* aus drei Zecken isoliert werden. Interessant dabei ist, dass alle 3 Zecken von Vögeln aus dem selben Gebiet des Genfersees, St. Livres, stammten und, dass alle 3 Zecken sowohl mit *B. lusitaniae* und *B. garinii* als auch mit *B. valaisiana* infiziert waren (Jouda et al. 2004_a).

In Amerika wird vor allem *B. burgdorferi sensu stricto* isoliert (Greene et al., 1998).

1.2.2 Übertragung und Migration der Borrelien

Borrelien werden durch Zecken der Gattung *Ixodes* auf den Wirt übertragen (Europa: *Ixodes ricinus*; Amerika: *Ixodes scapularis*, auch *Ixodes dammini* genannt).

Vereinzelt konnten Borrelien auch schon aus anderen Zeckenarten sowie aus Fliegen, Flöhen und Mücken isoliert werden. Unklar bleibt, ob diese Arthropoden auch eine Vektorfunktion übernehmen können (Piesman und Happ, 1997; Halouzka et al., 1998).

Ob in vivo eine Direktübertragung von Borrelien zwischen den Wirten stattfindet, ist bis heute unklar. In einem Bericht über ein Experiment mit Borrelien wird vermutet, dass ein Hund den Erreger durch den Urin eines anderen, mit Borrelien infizierten Hundes, aufgenommen hat (Cerri et al., 1994). In einer anderen Studie wurden Kontrollhunde während einem Jahr in direktem Kontakt mit infizierten Hunden gehalten. Keiner dieser Kontrollhunde zeigte eine Serokonversion und bei keinem der infizierten Hunde konnten Borrelien aus dem Urin oder der Harnblase isoliert werden (Appel et al., 1993). In derselben Studie konnte auch keine intrauterine Übertragung der Borrelien nachgewiesen werden, obwohl die Hündinnen während der Trächtigkeit infiziert wurden und spezifische Antikörper bildeten. In anderen Experimenten wiederum konnten intrauterine Infektionen mit Borrelien bei Hunden und Kühen beobachtet werden (Gustafson et al., 1993; Leibstein et al., 1998). Infektionsquellen, die für Hunde und Katzen ebenfalls in Betracht gezogen werden, sind Bluttransfusionen (Greene et al., 1998) und Sperma für die künstliche Befruchtung, da Borrelien gefroren während längerer Zeit überleben können (Kumi-Diaka und Harris, 1995).

Die *Ixodes*-Spezies, die Lyme Borreliose übertragen, haben einen mehrjährigen Lebenszyklus. Sie halten die Infektion in der Natur aufrecht, indem sie als infizierte Nymphe überwintern (Greene et al., 1998). Transovarielle Übertragung in den Zecken existiert kaum (Jaenson, 1991).

Im Frühjahr übertragen die überwinterten Nymphen die Borrelien auf kompetente Reservoirwirte, wie zum Beispiel Mäuse, an denen sich dann im Sommer die Zeckenlarven beim Saugen infizieren und sich wiederum zu den überwinterrungsfähigen Nymphen häuten. Die infizierte Nymphe, häutet sich nach erfolgter Blutmahlzeit zur adulten infizierten Zecke (Greene et al., 1998).

Wenn sich *Ixodes scapularis* am Wirt festsaugt, befinden sich die Borrelien noch im Zeckendarm und brauchen mindestens 24 h, um von dort über die Hämolymphe in die Speicheldrüsen der Zecke zu gelangen und dann über den Zeckenspeichel den Wirt zu infizieren (DeSilva et al., 1996). Entsprechend dauert es einige Stunden, bis überhaupt eine Infektion des Wirtes stattfinden kann.

Bei *Ixodes ricinus* hingegen findet die Übertragung von *B. afzelii* schon innerhalb der ersten 24 h, nachdem sich die Zecke am Wirt festgesaugt hat, statt (Crippa et al., 2002). Dies hängt möglicherweise damit zusammen, dass sich bei *Ixodes ricinus* ein Teil der Borrelien bereits vor der Blutmahlzeit der Zecke übertragungsbereit in deren Speicheldrüsen befindet (systemische Zeckeninfektion). Im Vergleich dazu lassen sich Infektionen mit *B. burgdorferi sensu stricto* durch *Ixodes ricinus* erst feststellen, wenn die Zecke länger als 48 h am Wirt belassen wird. Dies könnte damit zusammenhängen, dass *B. burgdorferi sensu stricto* sich nach der Übertragung auf den Wirt noch einige Zeit an der Stelle des Zeckenbisses aufhält (Shih et al., 1993) und so möglicherweise mit dem Stückchen Haut, das gemeinsam mit der Zecke aus dem Wirt entfernt wird, wieder eliminiert wird (Crippa et al., 2002).

Borrelien haben die Eigenschaft, sich an der Inokulationsstelle zu vermehren und von dort in umgebende und weiter entfernte Gewebe zu migrieren (Greene et al., 1998).

Einmal in den Körper eingedrungen können Borrelien, trotz monate- bis jahrelanger antimikrobieller Behandlung, in der Haut, den angrenzenden Geweben, den Gelenken und dem Nervensystem weiter persistieren (Greene et al., 1998). Sie leben extrazellulär und können das Immunsystem auf verschiedenen, zum Teil bis heute noch nicht geklärten Wegen, umgehen. *B. burgdorferi sensu stricto* und *B. afzelii* können zum Beispiel die Konzentration des aktiven Komplements C3b reduzieren, indem sie den Faktor H und das H-like Protein 1 an ihre Oberfläche binden. Dadurch hemmen sie die Aktivierung von C3 zu C3b und beschleunigen den Faktor I-vermittelten Abbau von C3b. Dadurch wird die Komplementkaskade und damit die Eliminierung der Borrelien gehemmt (Alitalo et al., 2001).

1.2.3 Krankheitsverlauf

Man vermutet, dass beim Hund die klinische manifeste Borreliose im Verhältnis zur Häufigkeit der Erregerexposition nur selten auftritt (Bosler et al., 1988; Levy und Magnarelli, 1992; Davoust und Boni, 1998). Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass die Borrelien, mit denen die Hunde in Kontakt kommen, zwar infektiös, nicht aber pathogen sind (Anderson et al., 1990).

Bis heute geht man davon aus, dass die klinischen Symptome der Borreliose im wesentlichen immunpathogenetischen Ursprungs ist (Levy und Magnarelli, 1992; Levy et al., 1993; Härter et al., 1999). Allein durch die autonome Replikation von Plasmid DNA einer nur geringen Anzahl von Spirochäten, kann eine entzündliche Reaktion des Wirtes ausgelöst werden (Greene et al., 1998). Die vielschichtige Immunantwort gegen Borrelienantigene kann sich auch gegen körpereigene Strukturen richten und so den Wirtsorganismus schädigen. Flagellin zum Beispiel, eines der am stärksten immunogenen Proteine der Borrelien, kann die Bildung von Antikörpern auslösen, die an neuroaxonale Proteine des Wirtes binden, was vermutlich die Ursache für die, vor allem beim Mensch beobachtete, entzündliche Reaktion im Nervengewebe ist (Sigal, 1994). Weiter können Borrelien die Regulation von Interleukin-8 beeinflussen und so die Rekrutierung von neutrophilen Granulozyten ins entzündete Gewebe bewirken, was eine wichtige Rolle bei der Entwicklung der eitrigen Polyarthrititis spielt (Straubinger et al., 1997_a).

Das klinische Bild der Borreliose beim Hund in Europa ist bisher nur ungenau beschrieben. Viele Berichte über Borreliose und deren typische Symptome beim Hund stammen aus Amerika. Da in Amerika aber eine andere Genospezies der Borrelien vorherrscht als in Europa -*B. burgdorferi sensu stricto*- darf von der Krankheitssituation in Amerika nicht auf die Situation in Europa geschlossen werden (Dressler et al., 1994; Greene et al., 1998). Es werden immer wieder Berichte über unspezifische Symptome, wie Fieber (39,5°C – 40,5°C), intermittierende Lahmheit mit dolenten, geschwollenen Gelenken (Polyarthrititis), Lymphadenomegalie und Anorexie, publiziert (May et al., 1990; McKenna et al., 1995; Overduin und van den Bogaard, 1997; Hovius et al., 2000). Andere Studien aber provozieren mit ihren Ergebnissen die Frage, ob die in Europa vorkommenden *B. burgdorferi* Genospezies überhaupt pathogen sind für den Hund (Davoust und Boni, 1998; Reiner et al., 2002; Jenal, 2002).

In Amerika ist das klinische Bild, verursacht durch die dort vorherrschende Genospezies *B. burgdorferi sensu stricto*, gut erforscht. Die Krankheit äussert sich vor allem durch die schon zuvor genannten Symptome, wie Fieber, intermittierende Lahmheit, Polyarthrit, Lymphadenomegalie und Anorexie. Weitere Symptome, die beim Hund vor allem in Amerika auch schon mit Borrelien in Zusammenhang gebracht wurden, sind rheumatoide Arthritis (Roush et al., 1989), neurologische Dysfunktionen (Feder et al., 1991; Azuma et al., 1993; Mandel et al., 1993; Master und Ellis, 1995; Overduin und van den Bogaard, 1997), Glomerulonephritis (Magnarelli et al., 1987; Grauer et al., 1988; Reusch et al., 1994; Dambach et al., 1997) und Herzarrhythmien, ausgelöst durch Myokarditis (Levy und Duray, 1988). Leider wurde bei den meisten dieser beschriebenen Fälle der Zusammenhang zu den Borrelien nur mittels Serologie und nicht durch den direkten Erregernachweis hergestellt. Einzig Magnarelli et al. (1987), Grauer et al. (1988) und Dambach et al. (1997) konnten den Erreger in den Nieren oder im Urin nachweisen, wobei Magnarelli et al. (1987) und Dambach et al. (1997) den Zusammenhang der Nierenveränderungen mit den Borrelien eher in Frage stellten. Grauer et al. (1988) dagegen, die bei einem Hund mit Nierenerkrankung mittels Immunfluoreszenzfärbung Borrelien im Urin nachgewiesen hatten, gingen davon aus, dass die Borrelien tatsächlich die Ursache für die tubulointerstitiellen Läsionen in den Nieren waren.

Zusätzliche Symptome der Borreliose, die beim Mensch, aber bis jetzt noch nie beim Hund beschrieben wurden, sind Hörsturz und Neuronitis vestibularis (Walther et al., 2003), Konjunktivitis, Choroiditis, Hepatitis und Myositis oder Fasciitis (Greene et al., 1998).

Die Krankheit bricht etwa 2 bis 5 Monate nach der Infektion aus (Appel et al., 1993). Je jünger ein Tier ist und je schlechter sein Immunstatus ist, desto grösser ist die Neigung zur Entwicklung klinischer Symptome (Greene et al., 1998).

1.2.4 Diagnose

Zur Diagnose einer klinischen Borreliose müssen zuvor andere Krankheiten ausgeschlossen werden. Sie beruht meist nur auf den klinischen Symptomen, der Vorgeschichte mit Zeckenexposition, dem Nachweis von Antikörpern gegen Borrelien und der schnellen Verbesserung der klinischen Symptome nach Beginn der antibakteriellen Therapie (Azuma et al., 1994; Greene et al., 1998). Die Anwesenheit von Antikörpern gegen Borrelien bedeutet jedoch lediglich, dass sich das Tier mit dem Bakterium immunologisch auseinandergesetzt hat. Sie beweist aber nicht, dass die Borrelien die Ursache für die klinische Erkrankung sind (May et al., 1991). Borreliose ist zu einer Modeerkrankung geworden. Sowohl in der Humanmedizin, als auch in der Veterinärmedizin wird sie vermutlich überdiagnostiziert (Steere et al., 1993). Für den serologischen Nachweis der Borrelienantikörper werden als Routinemethoden vor allem der "Enzyme-Linked Immunosorbent Assay" (ELISA), der Immunfluoreszenztest (IFT) und Westernblot eingesetzt (Lindenmayer et al., 1990; Wittenbrink et al., 1996; Wilske, 2002). Kurz nach der Infektion sind die serodiagnostischen Resultate meistens negativ, da IgG-Antikörper gegen Borrelien erst 4-6 Wochen nach der Infektion nachweisbar sind (Appel et al., 1993). Ungefähr nach drei Monaten erreicht der IgG-Titer sein Maximum und bleibt für mindestens ein Jahr, durch erneute Erregerexposition oder durch persistierende Infektion sogar über mehrere Jahre, hoch (Greene et al., 1998). Nach experimenteller Inokulation von

Borrelien steigt der IgM-Titer vor dem IgG-Titer an, bleibt für etwa 2 Monate hoch und sinkt dann wieder ab. Theoretisch wäre deshalb eine parallele Bestimmung von gegen Borrelien gerichtetem IgG und IgM für die Erfassung des Zeitpunkts der Infektion aussagekräftiger, als nur die Bestimmung von IgG. In natürlich infizierten Tieren bleibt der IgM-Titer aber über mehrere Monate hoch, so dass keine Aussage über den Zeitpunkt der Exposition gemacht werden kann (Jacobson et al., 1996; Hilton et al., 1997). Lahmheit und Fieber treten im Vergleich zum Antikörpertiter verzögert, 2 bis 5 Monate nach der Exposition mit Borrelien, auf (Appel et al., 1993; Greene et al., 1998).

Ein Problem des IFT und des ELISA ist die relativ geringe Spezifität (Greene et al., 1998). Falsch positive Resultate können zum Beispiel durch Kreuzreaktionen mit Antikörpern gegen andere pathogene oder nichtpathogene Spirochäten auftreten (Lindenmayer et al., 1990).

Beim Mensch wurde beobachtet, dass falsch positive Resultate durch Autoimmunerkrankungen, rheumatoide Arthritis, Syphilis und periodontale Erkrankungen induziert werden können. Analog konnten in Grossbritannien bei Hunden mit periodontalen Erkrankungen und oralen, vermutlich durch andere Spirochätenarten verursachten Infektionen, höhere Antikörpertiter gegen Borrelien festgestellt werden, als bei klinisch gesunden Tieren (Schillhorn et al., 1993; Greene et al., 1998). Um solche falsch positiven Resultate zu vermeiden, sollten positive IFT- und ELISA-Resultate immer mit einem Immunoblot bestätigt werden (Shin et al., 1993).

Ein weiteres Problem des IFT und des ELISA ist, dass beide Tests nicht zwischen Antikörpern, die aufgrund einer natürlichen Infektion und Antikörpern, die aufgrund einer Impfung gebildet wurden, unterscheiden können (Barthold et al., 1995).

Geimpfte Tiere können noch mehrere Monate bis Jahre nach der Applikation des Impfstoffes Antikörper gegen Borrelien aufweisen (Greene et al. 1998).

Die Abhängigkeit von diesen serologischen Tests für die Diagnosestellung beruht vor allem darauf, dass die Isolation der Borrelien durch Kultur und der Nachweis durch Mikroskopie oder PCR aus Gewebe und Körperflüssigkeiten nur selten gelingt (Greene et al., 1998).

Die Isolation des Erregers ist schwierig, weil oft nur eine kleine Anzahl der Borrelien im Gewebe präsent ist und weil die Sensitivität der Isolationsmethoden nur gering ist (Greene et al., 1998; Reiner et al., 2002; Speck et al., 2002). Am erfolgreichsten war bis jetzt die Isolation der Borrelien aus der Haut in der Umgebung des Zeckenbisses oder aus Gewebe mit viel Fibrozyten und aus extrazellulärer Matrix (Faszien, Perikard, Peritoneum, Meningen, Gelenkscapseln und Nebennieren) (Appel et al., 1993; Nocton et al., 1994; Greene et al., 1998; Zore et al., 2002). Vereinzelt konnten auch Borrelien aus Blut (Malloy et al., 1990; Speck et al., 2002) isoliert, sowie im Urin (Bauerfeind et al., 1997; Bergmann et al., 2002; Lásiková et al., 2003), in Synovialflüssigkeit (Persing et al., 1994) und im Liquor (Lásiková et al., 2003) nachgewiesen werden. Als die PCR zum Nachweis der Borrelien entwickelt wurde, hatte man grosse Erwartungen in diese Methode. Heute hat sie nur eine geringe diagnostische Bedeutung (Greene et al., 1998). Dies hängt damit zusammen, dass je nach Wahl der Primer die PCR-Resultate stark variieren können (Persing et al., 1994). Ein weiteres Problem der PCR ist, dass sie nicht zwischen lebenden und toten Borrelien unterscheiden kann. In Studien konnte nachgewiesen werden, dass nach antimikrobieller Therapie Fragmente von Borrelien in der Synovialmembran zurückbleiben, die zu falsch positiven PCR-Resultaten führen können (Nocton et al., 1994; Priem et al., 1998; Straubinger, 2000).

Um einen positiven Borrelien-Antikörpertiter mit der Erkrankung des Tieres in Zusammenhang bringen zu können, ist die Kenntnis einer Vorgeschichte mit Zeckenexposition hilfreich. Allgemein gilt, dass das Infektionsrisiko für Borrelien mit der Anzahl Zecken, die ein Hund hat und mit der Zeitdauer, während der die Zecken an ihm belassen werden, ansteigt (Guerra et al., 2001; Crippa et al., 2002). Weiter werden die klinischen Symptome des Tieres in die Interpretation des positiven Borrelientiters mit einbezogen. Aber auch dies führt nicht zur eindeutigen Diagnose Borreliose, da die klinischen Symptome, die bei dieser Erkrankung beobachtet werden, wie Fieber, intermittierende Lahmheit, Gelenkschwellung, Lymphadenomegalie und Anorexie, unspezifisch sind (Appel et al., 1993; Baumann et al., 2003). Typische hämatologische und blutchemische Veränderungen gibt es bei der Borreliose nicht (Greene et al., 1998) und die entzündlichen Veränderungen, die manchmal in der Synovialflüssigkeit und im Liquor gesehen werden, sind ebenfalls nur unspezifisch (Greene et al., 1998).

Für viele Tierärzte gilt deshalb, neben dem Vorkommen eines positiven Antikörpertiters gegen Borrelien, der Vorgeschichte mit Zeckenexposition und dem Vorhandensein mindestens eines dieser unspezifischen, bei Borreliose beobachteten Symptome, die Verbesserung der klinischen Symptome innerhalb 24 bis 48 h nach Beginn der antimikrobiellen Therapie als definitive Bestätigung der Diagnose Borreliose (Greene et al., 1998). Die Verbesserung der klinischen Symptome nach Beginn der antimikrobiellen Therapie sollte aber mit Vorsicht beurteilt werden, da akute Gliedmassen- und Gelenkerkrankungen oft intermittierend verlaufen und spontan, auch ohne antimikrobielle Therapie, nach ein paar Tagen bis Wochen wieder verschwinden (Magnarelli et al., 1990).

1.2.5 Therapie

Lange galt bei einer Infektion mit Borrelien sowohl in der Veterinär- als auch in der Humanmedizin Doxycyclin als das Antibiotikum der Wahl (Johnson et al., 1990). Es ist kostengünstig und penetriert gut in die Gewebe und die Zellen hinein. Zusätzlich zeigt eine Studie an Hunden, dass Doxycyclin bei nicht infektiös induzierter Arthritis eine chondroprotektive Wirkung hat. (Yu et al., 1992). Heute werden in der Humanmedizin auch andere Antibiotika gegen Borrelien eingesetzt. Ceftriaxon, ein Cephalosporin der 3. Generation, penetriert zum Beispiel sehr gut in das Zentralnervensystem und ist deshalb zum Einsatz bei Neuroborreliose des Menschen geeignet (Dattwyler et al., 1997). Eine Studie beim Mensch zeigt aber, dass es keinen Unterschied im Therapieerfolg gibt, wenn Doxycyclin während 10-20 Tagen als Monotherapie verabreicht oder wenn initial zusätzlich noch eine Dosis Ceftriaxon injiziert wird (Wormser et al., 2003). Zur Therapie der Borreliose werden in der Humanmedizin auch β -Laktame und Makrolide eingesetzt (Murgia et al., 2002). Es ist wichtig zu wissen, dass Borrelien in vitro in der Gegenwart von Ceftriaxon und β -Laktam vermehrt in ihre zystische Form übergehen und sich so gegen die Medikamente schützen können. In der Gegenwart von Makroliden und Tetracyclin wurde dies nicht beobachtet (Murgia et al., 2002).

Mehrere neuere Studien aus der Humanmedizin haben zusätzlich ergeben, dass es in vitro einen Unterschied der verschiedenen Genospezies der Borrelien in der Empfindlichkeit gegenüber Antibiotika gibt. *B. garinii* reagiert zum Beispiel empfindlicher auf Penicillin, Makrolide und Cephalosporine als *B. afzelii* und *B. burgdorferi sensu stricto*. Der Grund für diesen Unterschied in der Empfindlichkeit ist bis heute nicht bekannt. Dieser Unterschied ist aber klein und die Wirkung der

Antibiotika auf die Borrelien wird durch die verschiedenartige Gewebspenetration der einzelnen Wirkstoffe wieder ausgeglichen, so, dass diese Beobachtung keine Konsequenzen für die in vivo Therapie hat (Sicklinger et al., 2003; Henneberg und Neubert, 2002; Preac-Mursic et al., 1996).

Die Antibiotika werden in den meisten Fällen mindestens während 30 Tagen verabreicht (Greene et al., 1998). Studien an Hunden und Mäusen zeigen aber, dass der Erreger innerhalb dieser Zeit nicht mit Sicherheit vollständig eliminiert wird. Entsprechend sind Rückfälle möglich (Malawista et al., 1994; Straubinger et al., 1997_b). Durch die antimikrobielle Therapie wird der Serum-Antikörpertiter abgesenkt oder sogar ganz zum Verschwinden gebracht. Durch erneute Proliferation von überlebenden Spirochäten nach Absetzen des Antibiotikums kann es aber wieder zu einem neuen Titeranstieg kommen (Straubinger et al., 1997_b).

Seit kurzem wird in der Humanmedizin auch die Kombination von Antibiotika mit einem Granulozyten-Kolonien stimulierenden Faktor (Filgrastim) diskutiert. Dieser soll die Entstehung funktionsfähiger neutrophiler Granulozyten und deren Freisetzung aus dem Knochenmark regulieren. Die bisherigen Untersuchungsergebnisse dazu scheinen vielversprechend zu sein (Diterich, 2003).

1.2.6 Prophylaxe

Um zu vermeiden, dass ein Hund an Borreliose erkrankt, muss verhindert werden, dass er überhaupt mit Borrelien in Kontakt kommt. Eine gute Zeckenprophylaxe muss betrieben werden mit dem Ziel, die Zecke abzutöten, bevor sie ihren Wirt befällt und mit dem Blutsaugen beginnen kann (Liebisch, 1996). Falls die Zecke den Hund sticht, muss sie entfernt werden, bevor sie die Gelegenheit hat, die Borrelien zu übertragen (DeSilva et al., 1996; Piesman und Happ, 1997; Crippa et al., 2002). Da Zeckenschutzmittel nur die Zahl der Zecken, die sich am Hund festsaugen, vermindern, nicht aber den Kontakt verhindern, wurden verschiedene Impfstoffe gegen Lyme-Borreliose entwickelt. In der Schweiz und im gesamten Europa ist bis heute beim Hund als einziger Impfstoff Merilym® (Merial, USA; Vertrieb: Biokema AG, Crissier-Lausanne, Schweiz) zugelassen. Merilym® ist ein inaktivierter Ganzzellimpfstoff aus einem *B. burgdorferi sensu stricto* Stamm (Liebisch und Liebisch, 1999).

Das Prinzip der Impfung gegen Borrelien beruht auf folgendem Mechanismus: Borrelien weisen natürlicherweise auf ihrer Oberfläche das Protein OspA auf. Während der Übertragung der Borrelien von der Zecke auf den Wirt, geht dieses OspA verloren und wird durch das Oberflächenprotein OspC ersetzt.

Aus diesem Grund bilden natürlich infizierte Hunde keine oder kaum Antikörper gegen das Oberflächenprotein OspA, dafür aber gegen OspC. (Schwan et al., 1995; Stevenson et al., 1995; DeSilva et al., 1996). Wird ein Hund gegen Lyme-Borreliose geimpft, bildet er Antikörper gegen das Oberflächenprotein OspA der Borrelien, nicht aber gegen OspC. Saugt nun eine Zecke an diesem geimpften Hund Blut, hemmen dessen OspA-Antikörper noch innerhalb der Zecke das Wachstum der Borrelien und somit deren Invasion der Speicheldrüsen und die Übertragung auf den Wirt (Chang et al., 1995; Schwan et al., 1995; Stevenson et al., 1995; DeSilva et al., 1996).

Bis heute ist nicht geklärt, ob Merilym® wirklich den gewünschten Schutz gegen Borreliose bewirkt. Die Wirksamkeit des Impfstoffes wurde experimentell nur bei mit *B. burgdorferi sensu stricto* infizierten Hunden geprüft (Liebisch und Liebisch, 1999;

Wiedmann und Milward, 1999). Die Wirksamkeit des Impfstoffes gegenüber anderen Borrelienarten ist bisher nicht eindeutig geklärt (Liebisch und Liebisch, 1999).

1.2.7 Zoonoserisiko

Infizierte Hunde und Katzen stellen kein Risiko für den Mensch dar, ausser sie bringen infizierte Zecken ins Haus. Da aber Zecken der Familie *Ixodidae* in Gebäuden nicht lange überleben, ist eine Infektion durch solche Zecken unwahrscheinlich (Greene et al., 1998).

Die Übertragung von Borrelien vom Hund direkt auf den Mensch, wurde bis heute nicht beschrieben. Hunde dienen aber als weitere Reservoirwirte, da sie oft mit Borrelien infiziert sind, ohne klinische Symptome zu zeigen. Dadurch können sie die Zahl der infizierten Zecken und somit Risiko für den Mensch, infiziert zu werden erhöhen. (Mather et al., 1994; Davoust und Boni, 1998; Gossens et al., 2001).

1.3 Glomerulonephritis

Unter einer Glomerulonephritis versteht man eine entzündliche Erkrankung der Glomerula der Nieren. Meistens ist die Ursache immunologisch bedingt (Grauer und DiBartola, 2000). Die infektiösen Erreger, die beim Hund am häufigsten mit einer Glomerulonephritis in Zusammenhang gebracht werden, sind Leishmanien, Ehrlichien und Dirofilarien (Grauer und DiBartola, 2000). Auch *B. burgdorferi* wurde bei einigen Hunden in Amerika im Zusammenhang mit Glomerulonephritis diskutiert, da bei einigen erkrankten Hunden mittels Silberfärbung oder Immunfluoreszenz Borrelien in den Nieren nachgewiesen werden konnten (Magnarelli et al., 1987; Grauer et al., 1988; Dambach et al., 1997).

In der humanmedizinischen Literatur findet man kaum Borreliose-Fälle, bei denen eine Glomerulonephritis auftrat. Beschrieben wird Glomerulonephritis vom membranoproliferativen Typ, die vermutlich durch zirkulierende Immunkomplexe ausgelöst wurde (Hardin et al., 1979; Kelly et al., 1999).

In Europa konnten bis heute im Zusammenhang mit Glomerulonephritis beim Hund keine Borrelien in den Nieren nachgewiesen werden. Berichte, die eine Verbindung zwischen *B. burgdorferi* und Nierenerkrankungen diskutieren, beruhen ausschliesslich auf serologischem Nachweis von Antikörpern gegen Borrelien (Reusch et al., 1994).

Eine Alters- oder Geschlechtsprädisposition für Glomerulonephritis beim Hund ist nicht bekannt. Die Glomerulonephritis kann aber familiär gehäuft auftreten, wie beim Dobermann Pinscher, Samoyede, Rottweiler, Greyhound, Cocker Spaniel, Soft Coated Wheaten Terrier und Berner Sennenhund (Bloedow, 1981; Picut und Lewis, 1987; Carpenter et al., 1988; Littman und Giger, 1990; Cook et al., 1993; Reusch et al., 1994; Lees et al., 1997).

1.3.1 Anatomie/Physiologie

In einem gesunden Glomerulum besteht die Filtrationsbarriere aus 3 Hauptkomponenten, nämlich dem fenestrierten Endothel der Kapillaren des Glomerulums, der glomerulären Basalmembran und den viszerale Epithelzellen

(Podozyten), deren Füsse durch eine ultradünne Schlitzmembran voneinander getrennt sind (Tryggvason und Pettersson, 2003).

Die glomeruläre Basalmembran besteht aus Typ IV Kollagen, Laminin, Nidogen und Proteoglykanen. Die Proteoglykane enthalten relativ viel Heparinsulfat, durch welches die Membran eine negative elektrische Ladung erhält (Tryggvason und Pettersson, 2003).

Lange wurde angenommen, dass diese negative elektrische Ladung eine wichtige Filtrationsbarriere für negativ geladene Plasmaproteine darstellt. In einer neueren Studie konnte aber gezeigt werden, dass Mäuse, deren glomeruläre Basalmembran aufgrund von fehlendem Heparinsulfat keine negative elektrische Ladung aufwies, keine Proteinurie entwickelten (Rossi et al., 2003). Die genaue Bedeutung der negativen elektrischen Ladung der glomerulären Basalmembran für die Funktion der Filtrationsbarriere muss in weiteren Studien noch untersucht werden (Tryggvason und Pettersson, 2003).

Bereits besser untersucht ist die Bedeutung der ultradünnen Schlitzmembran. Die Podozyten sitzen zur Harnseite hin auf der Basalmembran. Dabei greifen die Fortsätze ("Füsschen") des einen Podozyten zwischen die der anderen, ohne sie zu berühren. Die Spalten, auch Filtrationsschlitze genannt, die dadurch entstehen, werden von einer dünnen, extrazellulären Schlitzmembran bedeckt.

Elektronenmikroskopisch konnte nachgewiesen werden, dass diese Membran tatsächlich ein Filter darstellt, mit Poren, die kleiner sind als Albumin (Rodewald und Karnovsky, 1974). Die Schlitze selber sind von Proteinkomplexen umgeben. Eine Veränderung in nur einem Protein dieser Komplexe führt dazu, dass Plasmaproteine, wie Albumin, die Schlitzmembran durchwandern können und eine Proteinurie entsteht (Putala et al., 2001; Tryggvason und Pettersson, 2003).

Nach dem heutigen Stand der Forschung wird in den Glomerula also vor allem anhand der Grösse der Moleküle ($< 34 \text{ nm}$) filtriert (Tryggvason und Pettersson, 2003).

1.3.2 Pathophysiologie

Durch Ablagerung von Immunkomplexen in den Glomerula wird eine immunbedingte Zerstörung des umliegenden Gewebes ausgelöst, die zu progressivem Nephronenverlust und in der Folge zum chronischen Nierenversagen führt (Grauer et al., 1988). Anhand von Nierenbiopsien konnte gezeigt werden, dass beim Hund eine Glomerulonephritis eine der häufigsten Ursachen für chronisches Nierenversagen ist (Grauer und DiBartola, 2000).

Damit Immunkomplexe in den glomerulären Kapillarwänden abgelagert werden, müssen sie löslich sein und das Verhältnis Antikörper zu Antigen muss ausgeglichen sein oder es darf höchstens ein kleiner Überschuss an Antigenen bestehen. Besteht ein Überschuss an Antikörpern, entstehen schwerlösliche Immunkomplexe, die vom Immunsystem sofort erkannt und abgebaut werden, bevor sie in den glomerulären Kapillaren abgelagert werden können. Besteht ein grosser Überschuss an Antigenen, werden die Immunkomplexe in den glomerulären Kapillarwänden abgelagert, bewirken aber nur eine geringe immunologische Zerstörung des umliegenden Gewebes, da sie kaum Komplement binden (Grauer und DiBartola, 2000).

Immunkomplexe können auch an Ort und Stelle in den glomerulären Kapillarwänden gebildet werden, indem zirkulierende Antikörper mit endogenen, glomerulären oder mit nichtgebundenen, in den glomerulären Kapillarwänden abgelagerten Antigenen reagieren (Grauer und DiBartola, 2000).

Echte autoimmune Erkrankungsformen, bei denen Antikörper direkt gegen endogene Antigene der glomerulären Basalmembran gerichtet sind, wurden bis heute bei Hund und Katze nicht beschrieben (Grauer und DiBartola, 2000).

Durch die Ablagerung der Immunkomplexe in den glomerulären Kapillarwänden kommt es innerhalb der Glomerula zur Aktivierung des Komplementsystems, zur Plättchenadhäsion und -aggregation, zur Infiltration mit polymorphkernigen Leukozyten und zur Aktivierung des Koagulationssystems mit Fibrinablagerung (Chew und DiBartola, 1986). Durch diese entzündlichen Prozesse wird innerhalb des Glomerulums eine zelluläre Proliferation (proliferative Glomerulonephritis) und/oder eine Verdickung der glomerulären Basalmembran (membranöse Glomerulonephritis) ausgelöst (Chew und DiBartola, 1986). Als Folge davon kommt es zum Verlust von Protein über den Urin. Das erste Protein, das bei einem glomerulären Schaden vermehrt im Urin auftritt, ist Albumin. Bei einer Konzentration von 1 bis 30 mg Albumin pro 1 dl Urin spricht man von Mikroalbuminurie (Grauer, 2003). Vorläufige Resultate verschiedener Studien zeigen, dass bei Hunden, die mit Dirofilarien infiziert sind und bei Hunden, die für Glomerulonephritis genetisch prädisponiert sind, Mikroalbuminurie als Vorläufer der Proteinurie auftritt (Jensen et al., 2001; Vaden et al., 2001; Grauer et al., 2002). Beim Mensch konnte gezeigt werden, dass auch starke körperliche Belastung zu einer transienten oder sogar reversiblen Mikroalbuminurie führt. Beim Hund aber kann dieser Effekt nur bei 0-15% der untersuchten Tiere beobachtet werden (Zuverlässigkeit 95%; Gary et al, 2004). Sobald ein Glomerulum irreversibel zerstört ist und seine Funktion nicht mehr erfüllt, beginnen die übriggebliebenen Glomerula die fehlende Funktion zu übernehmen. Durch diese Überbelastung werden sie mit der Zeit selber beschädigt, was zu progressivem Nephronenverlust, unabhängig von der ursprünglichen, immunologischen Ursache der Glomerulonephritis, und entsprechend zu einer Zunahme der Niereninsuffizienz, führt. Eine Azotämie tritt erst in einer späteren klinischen Phase auf, wenn mehr als $\frac{3}{4}$ der Nephrone beider Nieren zerstört sind (Jacob et al., 2003).

1.3.3 Klinik

So lange die Proteinurie nur schwach ist, sieht man keine bis nur leichte, unspezifische Symptome, wie Gewichtsverlust und Lethargie. Sobald die Proteinurie aber stärker wird und in der Folge eine Hypoalbuminämie auftritt, kann es zur Bildung von Ödemen und Körperhöhlenergüssen kommen (Grauer, 2003). Tritt aufgrund des erniedrigten Protein- und Lipoproteinmetabolismus zusätzlich eine Hypercholesterolämie auf, spricht man vom nephrotischen Syndrom (Wheeler et al., 1989, Relford et al., 1996).

Durch die Bildung von Ödemen und Körperhöhlenergüssen wird das Plasmavolumen vermindert, was zu Natrium- und Wasserretention in den Nieren und in der Folge zu Hypertension führt. Vor allem beim Mensch, aber auch beim Hund und der Katze, kann es dadurch zu Retina-Blutungen, Retina-Ablösungen und Papillaödemen kommen, was sich durch akut auftretende Blindheit äussert (Grauer und DiBartola, 2000).

Bei einer Glomerulopathie können zusätzlich Hyperkoagulabilität und Thromboembolien auftreten. Antithrombin III, ein wichtiger Blutgerinnungshemmer gehört zu den Proteinen, die bei diesen Erkrankungen über den Urin verloren gehen. Zudem führt die Hypoalbuminämie zu vermehrter Plättchenadhäsion und

Plättchenaggregation. Am häufigsten treten solche Thromboembolien in den Lungen auf (Cook und Cowgill, 1996, Grauer und DiBartola, 2000).

In einer späteren Krankheitsphase können zu den Symptomen der Glomerulopathie zusätzliche Symptome einer chronischen Niereninsuffizienz auftreten, wie Polyurie/Polydypsie, Anorexie, Nausea und Erbrechen (Cook und Cowgill, 1996).

1.3.4 Diagnose

Die Diagnose wird anhand der klinischen Symptome, gestützt auf labordiagnostische Untersuchungen, gestellt. Als typischer Befund gilt eine Proteinurie bei einem inaktiven Harnsediment, ev. mit hyalinen Zylindern im Urin (Grauer, 2003).

Zur Beurteilung der Proteinurie muss neben dem semiquantitativen Teststreifen auch der Protein-Kreatinin-Quotient im Urin (UPC) bestimmt werden. Das UPC liefert ein ähnlich zuverlässiges Resultat wie der 24h-Sammelurin. Seine Höhe korreliert in etwa mit der Schwere der Läsionen an den Glomerula (White et al., 1984; Grauer et al., 1985; McCaw et al., 1985).

Anhand der Anamnese, der klinischen Untersuchung und der Blut- und Urinanalyse muss abgeklärt werden, ob es sich tatsächlich um eine glomeruläre oder um eine prä- oder postglomeruläre Form der Proteinurie handelt (Grauer und DiBartola, 2000). Eine weitere Methode dies sicherzustellen ist die elektrophoretische Auftrennung der Proteine, da je nach Ursprung der Proteinurie ein ganz anderes Proteinmuster im Urin auftreten kann (Grauer, 2003). Bei einer Proteinurie aufgrund einer Glomerulopathie tritt im Urin im frühen Stadium typischerweise vor allem Albumin auf. Im späteren Stadium kommen zusätzlich vermehrt Globuline dazu (Grauer, 2003).

Die Diagnose Glomerulonephritis kann nur durch histologische Untersuchungen von Nierenbiopsien definitiv abgesichert werden, da sich das klinische Bild nicht von einer Amyloidose oder einer Glomerulosklerose unterscheidet. Dabei kann gleichzeitig die Art der Glomerulonephritis festgestellt werden. Da bisher in der Veterinärmedizin histologische Untersuchungen von Nierengewebe die Therapie nur wenig beeinflusst haben, wird oft darauf verzichtet (Vaden, 2003).

1.3.5 Therapie

Der wichtigste Schritt der Therapie der Glomerulonephritis ist die Behandlung der Ursache, falls diese bekannt ist. Eine Glomerulonephritis, die durch Dirofilariose, Ehrlichiose oder systemischen Lupus erythematosus verursacht ist, gilt als behandelbar (Grauer, 2003).

Oft ist aber die Ursache der Glomerulonephritis nicht bekannt. In solchen Fällen betreibt man eine unterstützende Therapie. Das Ziel dieser Therapie ist es eine Ödem- und Aszitesbildung zu verhindern, den Blutdruck im Normbereich zu halten und die Emboliegefahr zu minimieren (Relford et al., 1996). In einem ersten Schritt wird das Futter auf eines mit hoher Qualität und reduzierter Quantität an Proteinen umgestellt. Man geht davon aus, dass dadurch weniger Stickstoffabfallprodukte anfallen, die zum Auftreten des urämischen Syndroms beitragen und, dass die noch funktionierenden Glomerula weniger durch grosse Mengen filtrierter Proteine überbelastet werden (Kaysen, 1988; Burkholder et al., 2004). In einem weiteren Schritt werden, zur Verminderung des transkapillären hydrostatischen Drucks und der Verkleinerung der glomerulären endothelialen Zellporen, Angiotensin-Converting

Enzym (ACE) -Hemmer verabreicht (Brown et al. 1993; Remuzzi, 1995; Grodecki et al., 1997; Grauer und DiBartola, 2000). Dadurch kommt es zur Verminderung des intraglomerulären Drucks, der zellulären Proliferation und der Proteinurie. ACE-Hemmer verbessern zusätzlich den Lipoprotein-Metabolismus und bewirken eine verminderte Konzentration an Plasma Low-Density-Lipoprotein-Cholesterol und an Triglyceriden (Wojakowski et al., 2000). Eine Studie an Ratten zeigte, dass ACE-Hemmer auch den Verlust an Heparan-Sulfat, dem für die negative Ladung der glomerulären Filtrationsbarriere mitverantwortlichen Glykosaminoglycan-Proteoglycan, vermindern (Reddi et al., 1991). Wie aber schon erwähnt, muss die genaue Bedeutung der negativen elektrischen Ladung der glomerulären Basalmembran für die Funktion der Filtrationsbarriere in weiteren Studien noch erforscht werden (Tryggvason und Pettersson, 2003). Neuere Studien, die vor allem aus der Humanmedizin, vereinzelt aber auch aus der Tiermedizin stammen, empfehlen gleichzeitig mit dem ACE-Hemmer Angiotensin II-Rezeptor-Blocker zu verabreichen. Dadurch soll eine zusätzliche Verminderung der Proteinurie bewirkt werden (Nakao et al., 2003).

1.3.6 Prognose

Eine Glomerulonephritis ist meist eine progredient verlaufende Krankheit, die zu einer chronischen Niereninsuffizienz führt. Wie schnell sie fortschreitet ist individuell verschieden (Cook und Cowgill, 1996). Wird die auslösende Krankheit erfolgreich behandelt, kann die Glomerulonephritis reversibel sein, wie zum Beispiel bei Dirofilariose, Ehrlichiose und systemischem Lupus erythematosus. Liegt aber zum Zeitpunkt der Diagnosestellung bereits eine Azotämie vor, ist die Prognose in jedem Fall ungünstig (Grauer und DiBartola, 2000).

1.4 Hypothese

Die Arbeit von Preiss (1991) hat gezeigt, dass Berner Sennenhunde häufiger an Glomerulonephritis leiden als andere Hunde. Das Vorkommen von Glomerulonephritis bei Berner Sennenhunden im Sektionsmaterial war 13.9 x höher als bei allen Hunden zusammen. Ob ein Zusammenhang zwischen Borreliose und Glomerulonephritis besteht ist bisher nicht geklärt. 1988 berichteten Grauer et al. von einem Hund mit einem Nierenversagen und brachten das in Verbindung mit einer Infektion mit *B. burgdorferi*. Ein Jahr vorher beschrieben Magnarelli et al (1987) fünf Hunde, die Nierenerkrankungen entwickelten, nachdem bei ihnen Antikörper gegen *B. burgdorferi* festgestellt wurden. Sie betrachteten das als eine möglicherweise weniger häufige Form der Borreliose bei Hunden. Auch Dambach et al (1997) vermuteten einen Zusammenhang mit *B. burgdorferi* bei 49 Hunden mit Glomerulonephritis.

Reusch et al (1994) haben in einer Studie ebenfalls ein gehäuftes Vorkommen von Glomerulopathien bei Berner Sennenhunden festgestellt. Die Erkrankung wurde histologisch als membrano-proliferative Glomerulonephritis und interstitielle Nephritis gelesen (Minkus et al., 1994). Bei diesen Hunden wurden gleichzeitig hohe Serum-Antikörpertiter gegen *B. burgdorferi* festgestellt. Dies führte zu der Frage, ob das gehäufte Vorkommen von Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund im Zusammenhang mit *B. burgdorferi* steht. Diese Frage konnte aber zu diesem Zeitpunkt nicht beantwortet werden.

Im Rahmen von Untersuchungen zur Borreliose von Reiner et al an der Klinik für Kleintiermedizin der Universität Zürich in den Jahren 1999-2001 wurden auch 17 Hunde mit Nierenerkrankungen untersucht (Daten nicht publiziert). Von diesen 17 Hunden waren 5 Berner Sennenhunde (29%). Bei 4 von diesen 5 wurde mittels ELISA und Westernblot Antikörper gegen *B. burgdorferi* nachgewiesen. Die 4 Berner Sennenhunde, die Antikörper gegen Borrelien aufwiesen hatten eine Glomerulonephritis, während derjenige ohne Antikörper an einer anderen Nierenerkrankung litt. Von den anderen 12 Hunden wurde zwar bei 10 eine Glomerulopathie gefunden, aber nur bei zwei konnten Antikörper gegen *B. burgdorferi* nachgewiesen werden.

Aufgrund dieser Untersuchungen wurde von uns folgende Hypothese formuliert:

Das gehäufte Vorkommen von Glomerulonephritis bei Berner Sennenhunden ist die Folge einer Infektion mit *B. burgdorferi*.

1.5 Ziele

Das Ziel dieser Studie war, die Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi sensu lato* und von Proteinurie (Proteinurie als Symptom von Glomerulonephritis) in einer bekannten Population von Berner Sennenhunden (Hunde, die beim Schweizerischen Klub für Berner Sennenhunde registriert sind) zu erfassen und diese Daten mit denen von Hunden anderer Rassen zu vergleichen.

Weiter sollten alle Berner Sennenhunde, die während der Dauer dieser Studie (Mai 2002 bis Mai 2003) an der Klinik für Kleintiermedizin der Universität Zürich, vorgestellt wurden, auf Antikörper gegen *B. burgdorferi sensu lato* und Proteinurie untersucht werden. Zudem sollten alle Hunde, bei denen in dieser Zeit eine Proteinurie festgestellt wurde, in die Studie eingeschlossen werden, um festzustellen, ob bei anderen Hunderassen ein Zusammenhang zwischen Glomerulopathie und Borreliose ermittelt werden kann.

Anhand einer Stammbaumanalyse sollte untersucht werden, ob es einen möglichen Vererbungsmodus für Proteinurie als Zeichen einer Glomerulopathie bei Berner Sennenhunden gibt.

Durch Anwendung eines Mikroalbuminurie-Tests sollte geprüft werden, ob dieser Test eine Bedeutung für die Früherkennung einer Glomerulopathie bei Berner Sennenhunden hat.

Zusätzlich sollte anhand von Elektrophoresen des Urins untersucht werden, ob sich das Proteinmuster im Urin der Berner Sennenhunde mit und ohne Antikörper gegen *B. burgdorferi* von dem anderer Hunderassen unterscheidet.

2 Material und Methode

Zur Durchführung dieser Studie wurde am 15.05.2002 vom Kantonalen Veterinäramt Zürich eine Tierversuchsbewilligung ausgestellt, mit der Nummer 71/2002/2469. Die Bewilligung war bis zum 30.06.2004 gültig.

2.1 Hunde

In Zusammenarbeit mit dem Schweizerischen Klub für Berner Sennenhunde und dem Schweizerischen Klub für Neufundländer und Landseer wurden ausserhalb der Klinik (im Feld) Berner Sennenhunde und Kontrollhunde auf das Vorkommen von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* im Serum und auf Proteinurie als Anzeichen einer Glomerulopathie untersucht. Weiter wurden alle zwischen Mai 2002 und Mai 2003 an der Klinik für Kleintiermedizin der Universität Zürich vorgestellten Berner Sennenhunde und alle Hunde, bei denen in diesem Zeitraum an der Klinik eine renale Proteinurie festgestellt wurde, für die Studie erfasst.

2.1.1 Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde

Damit die Berner Sennenhunde in die Studie aufgenommen wurden, mussten sie mindestens 4 Monate alt sein. Mit diesem Mindestalter sollte verhindert werden, dass einem Hund, in Bezug auf seine Körpergrösse, eine zu grosse Blutmenge entnommen wird. Die Hunde mussten laut Besitzer gesund sein. Zusätzlich mussten sie reinrassig sein und Abstammungspapiere haben.

Die Proben wurden bei den Hundehaltern zu Hause entnommen. Die geographische Herkunft der untersuchten Hunde wurde nicht im Voraus festgelegt. Die Auswahl der für die Studie erfassten Hunde entstand zufällig, nach der Bereitschaft der Besitzer, sich an der Studie zu beteiligen. Die Hundehalter wurden durch den Schweizerischen Klub für Berner Sennenhunde in der Zeitschrift HUNDE, unter der Rubrik „Blässipost“, mehrmals auf die Studie aufmerksam gemacht und zum Mitmachen aufgefordert (Eichenberger, 2002; Rauch, 2002_a; Rauch, 2002_b).

2.1.2 Im Feld untersuchte Kontrollhunde

Damit die Kontrollhunde in die Studie aufgenommen wurden, mussten sie mindestens 4 Monate alt und laut Besitzer gesund sein. Sie mussten langhaarigen, grossen Rassen angehören, damit sie dem Berner Sennenhund in Haarkleid und Grösse ähnlich waren, da wir annahmen, dass sie so in Bezug auf die Zeckenexposition ähnliche Bedingungen hatten. Die geographische Herkunft der untersuchten Hunde wurde nicht im Voraus festgelegt. Um Aussagen über den Zusammenhang zwischen der Farbe des Haarkleides und dem Vorkommen von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* machen zu können, wurden die Hunderassen entsprechend ihrer Fellfarbe in eine hellhaarige und eine dunkelhaarige Gruppe eingeteilt.

2.1.3 An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde

Die zwischen Mai 2003 und Mai 2004 am Tierspital Zürich vorgestellten Berner Sennenhunde, die mindestens 4 Monate alt und reinrassig waren, wurden in die Studie aufgenommen. Der Grund für ihren Tierspitalaufenthalt spielte keine Rolle.

2.1.4 An der Klinik untersuchte Hunde anderer Rassen mit Proteinurie

Alle Hunde anderer Rasse, die zwischen Mai 2003 und Mai 2004 an der Kleintierklinik mit einer renalen Proteinurie vorgestellt wurden und mindestens 4 Monate alt waren, wurden in die Studie aufgenommen. Ihre Rasse spielte keine Rolle.

Eine renale Proteinurie wurde definiert als ein Urin UPC > 1, bei einem inaktiven Harnsediment (keine Bakteriurie und maximal 4 Leukozyten pro Gesichtsfeld im Urinsediment bei 400-facher Vergrößerung).

2.2 Probenmaterial

2.2.1 Gesammeltes Material

Allen Hunden wurde 20 ml Blut aus der Vena jugularis oder der Vena cephalica und 10 ml Urin durch Zystozentese unter Ultraschallkontrolle, mit einem tragbaren Ultraschallgerät (50S Tringa, 5.0 / 7.5 MHz, PIE Medical Equipment BV, Maastricht, Niederland), entnommen.

Jeder Besitzer im Feld musste einen Fragebogen (siehe Anhang 6.1.1.) über den momentanen Gesundheitszustand seines Hundes mit zusätzlichen Fragen über das Vorkommen von Zecken und den verwendeten Zeckenschutz ausfüllen. Diese Informationen dienten dazu, die Laborresultate der Tiere besser werten und eventuell sogar Hinweise auf erste klinische Anzeichen einer Nierenerkrankung zu erhalten. Zusätzlich wurden von den Berner Sennenhunden die Abstammungsdaten erfasst.

2.2.2 Lagerung und Transport des Probenmaterials

2.2.2.1 Probenentnahme im Feld

Das Blut wurde direkt nach der Entnahme in EDTA-, und Serumröhrchen gegeben und der Urin in ein steriles und ein produktions-steriles Urinröhrchen abgefüllt. Sobald das Probematerial abgefüllt war, wurde es für den mehrstündigen Transport in eine Kühlbox bei -10 bis 0 °C gegeben, mit Ausnahme des EDTA- Blutes, das, um die Thrombozytenverklumpung nicht zu beschleunigen, ungekühlt transportiert wurde.

Innerhalb von 2-12 Stunden nach der Probeentnahme, wurden Blutaussstriche angefertigt, das Blutserum abzentrifugiert, mit dem sterilen Urin die Harnkultur angelegt und 4 ml des in ein nicht-steriles Röhrchen abgefüllten Urins bei -80 °C eingefroren. Der Rest des Urins im nicht-sterilen Urinröhrchen und das Serum wurden bei 4°C gelagert und am nächsten Tag zur endgültigen Verarbeitung in die entsprechenden Labors gebracht.

2.2.2.2 Probenentnahme an der Klinik

Das Blut wurde direkt nach der Entnahme in EDTA- und Serumröhrchen gegeben und der Urin in ein steriles und ein nicht-steriles Urinröhrchen abgefüllt. 4 ml Urin wurden zusätzlich in ein nicht-steriles Röhrchen gegeben und direkt bei -80 °C eingefroren. Das abgefüllte Probematerial wurde innerhalb einer Stunde in die entsprechenden Labors zur Weiterverarbeitung geschickt.

2.2.3 Weiterverarbeitung des Probenmaterials

Bei allen Hunden wurde eine vollständige Hämatologie und ein Blutchemieprofil durchgeführt. Weiter wurden die Hunde mittels Borrelien-ELISA, kombiniert mit Westernblot, auf das Vorkommen von Antikörper gegen *B. burgdorferi* getestet. Um Kreuzreaktionen im Borrelien-ELISA mit Antikörper gegen Leptospiren zu erkennen, wurde ein Mikroagglutinations-Test zur Identifikation von Antikörpern gegen Leptospiren durchgeführt. Weiter wurde bei allen Hunden eine Urinanalyse mit Bestimmung des Protein-Kreatinin-Quotient im Urin (UPC), eine Urinkultur, ein Mikroalbuminurie-Test und ein (Natrium-Dodecyl-Sulfat-Agarose-Gel-Elektrophorese (SDS-AGE) des Urins durchgeführt.

2.2.3.1 Hämatologie, Blutchemie

Zur Bestimmung von Hämatokrit, Hämoglobin und der Gesamtleukozyten wurde ein elektronisches Zellzählgerät (Cell-Dyn 3500 Hämatologie-Analyzer, Abbott, Baar, Schweiz) verwendet. Die Hämoglobin-Bestimmung basierte auf einer photometrischen Bestimmung (546 nm) nach Hämolyse. Das Differentialblutbild wurde mit diesem Zellzählgerät und zusätzlich auch noch mikroskopisch, anhand von zweimal hundert Zellen im gefärbten Ausstrich (Wright-Färbung (= Gemisch aus May-Grünwald und Giemsa)), bestimmt.

Für die Bestimmung der blutchemischen Parameter wurde Serum durch Zentrifugation des Blutes während 10 Minuten, bei 3000 U/Min. gewonnen und anschliessend mit dem Cobas-Integra Analyzer für klinische Chemie (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz) untersucht. Folgende Werte wurden bestimmt: Bilirubin gesamt, Glukose, Harnstoff, Kreatinin, Protein (Biuret), Albumin, Cholesterin, Alkalische Phosphatase, Amylase, ASAT, ALAT, Natrium, Kalium, Kalzium und Phosphor.

2.2.3.2 Urinanalyse

Der Urin wurde mit einem Teststreifen des Combur 9-Tests® (Boehringer Mannheim, Deutschland) untersucht. Weiter wurde durch Zentrifugation während 5 Minuten bei 1500 U/Min. das Urinsediment gewonnen und mikroskopisch bei 400-facher Vergrösserung auf das Vorkommen von Erythrozyten, Leukozyten, Epithelzellen und Kristallen untersucht. Zusätzlich wurde maschinell mit dem Cobas-Integra Analyzer für klinische Chemie (Roche Diagnostics, Rotkreuz, Schweiz), mittels kolorimetrischer Methode mit dem Pyrogallolrot Molybdat-Komplex, der UPC bestimmt.

Ein UPC > 1, kombiniert mit einem inaktiven Harnsediment (keine Bakteriurie und maximal 4 Leukozyten pro Gesichtsfeld im Urin bei 400-facher Vergrößerung) wurde als renale Proteinurie definiert. Bei den Hunden im Feld wurde, ausgehend von den UPC-Werten der Kontrollhunde, zusätzlich bestimmt, wie viele Hunde ein UPC > 0.3 haben (siehe 2.3.2).

2.2.3.3 Enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) für *B. burgdorferi* Antikörper

Der ELISA zum Nachweis von Antikörpern gegen *B. burgdorferi sensu lato* wurde nach der Methode von Wittenbrink et al. (1996) am Institut für Veterinär bakteriologie, Vetsuisse-Fakultät Universität Zürich, durchgeführt.

Die Serumproben der Hunde wurden vor Durchführung des ELISA zur Entfernung kreuzreagierender Antikörper mit einem Gemisch aus formalininaktivierten Bakterien absorbiert. Das Bakteriengemisch enthielt etwa 10^8 Bakterien je ml und bestand aus folgenden in Reinkulturen vermehrten Bakterien: 18 *Leptospira* (L.) Serovaren (sv.; *L. interrogans* sv. *australis*, *bratislava*, *lora*, *münchen*, *autumnalis*, *bataviae*, *canicola*, *grippotyphosa*, *hebdomadis*, *icterohaemorrhagiae*, *copenhageni*, *pomona*, *pyrogenes* und *saxkoebing*. *L. borgpetersenii* sv: *ballum*, *hardjo*, *sejroe* und *tarassovi*), *Salmonella typhimurium*, *Brachyspira hyodysenteriae* und *Bacillus subtilis*. Zur Absorption wurden 50 µl Serum mit 50 µl des Bakteriengemisches in einem 1.5 ml-Röhrchen (Eppendorf, Hamburg, Deutschland) gemischt und über Nacht bei 4°C inkubiert. Anschliessend wurden die Bakterien durch Zentrifugation entfernt; der Überstand wurde im ELISA untersucht. Absorbierte und nicht-absorbierte Seren wurden im Doppelansatz auf derselben ELISA-Platte getestet.

Als Antigen wurde ein Ganzzellsonikat aus Reinkulturen der vier in Mitteleuropa am häufigsten nachgewiesenen Genospezies (*B. burgdorferi sensu stricto* (ss) B 31 (ATCC 35210), *B. garinii* N34, *B. afzelii* VS461 und *B. valaisiana* VS116) verwendet. Die Bakterien wurden in Barbour-Stoenner-Kelly-II-Medium (BSK-II) bei 34°C vermehrt (Barbour, 1984). Aus hochgradig bewachsenen Kulturen wurden die Borrelien durch Zentrifugation (1500 x g, 20 min) abgetrennt und durch dreimaliges Waschen in phosphatgepufferter Kochsalzlösung (PBS; 136,9 mM NaCl; 1,46 mM KH_2PO_4 ; 8,1 mM $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$; 2,7 mM KCl; pH 7,4) von Residuen des BSK-II gereinigt. Anschliessend wurde für jede Präparation der Proteingehalt bestimmt (Lowry et. al., 1951). Gleiche Proteinkonzentrationen der vier Antigene wurden gemischt, durch Ultraschallbehandlung homogenisiert und in 1-ml Aliquots bei -70°C bis zur Verwendung gelagert.

Mikrotiterplatten (Microton 655001, Greiner bio one, Nürtingen, Deutschland) wurden über Nacht bei 4°C mit Antigen (350 ng/ml) Borrelie nantigen in Karbonat-Bikarbonat Puffer (15,0 mM Na_2CO_3 ; 35,0 mM NaHCO_3 ; 3,0mMNaN₃; pH 9,6) beladen (100 µl/Kavität). Die Platten wurden entleert und dreimal in einem automatischen Waschgerät (Tecan, Maennedorf, CH) gewaschen. Als Wasch- und Verdünnungsflüssigkeit diente PBS pH 7,4 mit Zusatz von 0,05% TWEEN20 und 0,5% Proteose Pepton (Brunschwig, Basel, Schweiz). Die weiteren Inkubationen der Mikrotiterplatten erfolgten bei Raumtemperatur 1h auf einem Schüttler mit ca. 200 U/Min. Nach jeder Inkubation wurden die Platten dreimal gewaschen. Die Absättigung freier Bindungsstellen erfolgte mit Blockingpuffer (PBS+1,0% Proteose-Pepton; 200 µl/Kavität; 1 h Inkubation). Die Testseren wurden 1:100 verdünnt und

jeweils im Doppelansatz gegen das Borrelienantigen getestet (100 µl/Kavität). Zur Detektion gebundener Antikörper wurde Meerettichperoxidase-konjugiertes Kaninchen-anti-Hund-IgG (H+L) (Sigma, Diesenhofen, Schweiz) in einer Verdünnung von 1:10'000 verwendet (100 µl/Kavität). Gebundene Enzymaktivitäten wurden über den Umsatz von ABTS (2,2-Azino-di[3-ethyl-Benzthiazolinsulfat], Sigma, Diesenhofen, Schweiz) in 0,1 M Zitratpuffer pH 4,2 + 0,03% (vol/vol) H₂O₂ nachgewiesen (100 µl/Kavität). Der Substratumsatz wurde bei 405 nm in einem computergesteuerten Mehrkanalphotometer gemessen (Tecan). Die Reaktionen wurden durch Zugabe von 2,0 M H₂SO₄ (50 µl/Kavität) abgebrochen, nachdem der Substratumsatz der Positivkontrollen eine optische Dichte (OD₄₀₅) von 0,8-1,0 erreicht hatte (Ø 25-30 Min. Inkubation).

Die erste Vertikalreihe jeder Mikrotiterplatte enthielt nur Substrat (Blank-Reihe). Des Weiteren wurden Serumkontrollen (ohne Antigen) und Antigen-Konjugatkontrollen für beide Antigene durchgeführt. Auf jeder ELISA-Platte wurden positive Kontrollseren (Serum von Hunden nach Immunisierung mit *B. burgdorferi* ss.) und negative Kontrollseren mitgeführt (Blutserumproben von 33 Laborhunden ohne Exposition zu Zecken). Von den 33 Negativkontrollseren wurden für jeden Test sieben Seren willkürlich ausgewählt und zur Ermittlung des Grenzwertes (cut off) mitgeführt. Die Berechnung des cut off erfolgte aus den Messwerten der seriellen Untersuchungen der Negativkontrollseren nach der Formel von Tjissen (1985) auf dem Signifikanzniveau von $p < 0,01$. Die Präzision des ELISA wurde durch Berechnung der Intra- und Interassayvarianz aus ELISA-Daten der positiven Kontrollseren nach Chan und Perlstein (1987) ermittelt: Intraassay-Varianz für den Borrelia-ELISA ausgedrückt als Variationskoeffizient von 10 nacheinander durchgeführten Messungen: 7,4%; Interassay-Varianz: 9,2%. Beide Werte liegen deutlich unter dem zulässigen Maximalwert von 15% (Chan und Perlstein, 1987).

2.2.3.4 Westernblot für *B. burgdorferi* Antikörper

Die Blutserumproben der Hunde wurden mit einem Westernblot auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* untersucht. Dazu wurde ein für die Borrelienserologie in der Humanmedizin entwickelter Test verwendet (Virion Ltd., Rüschlikon, Schweiz). Der Test enthält Westernblotstreifen mit definierten Partialantigenen von *B. burgdorferi* ss. und *B. afzelii*. Der Test wurde entsprechend den Herstellerangaben durchgeführt und ausgewertet. Für die Untersuchung von Hundeseren wurde in Vorversuchen mit positiven und negativen Kontrollseren (siehe Abschnitt 2.2.3.3) eine Serumverdünnung von 1:200 und eine Konjugatverdünnung von 1:2000 ermittelt (Alkalische-Phosphatase-Kaninchen-anti-Hund IgG, H+L, Sigma, Diesenhofen, Schweiz).

Die Auswertung der Westernblot-Resultate erfolgte nach den Empfehlungen von Hauser et al. (1997). Als Borreliose positiv galten die Serumproben, die entweder eine Bande bei den Partialantigenen p100, p58, OspC, p21 oder wb18 erzeugten oder Proben die mindestens zwei Banden bei den Partialantigenen p45, bmpa und wb30 erzeugten. Banden die bei den Partialantigenen OspB, OspA, OspD, wb22 und OspE erzeugt wurden, wurden für die Diagnose Borreliose als zu unspezifisch bewertet.

2.2.3.5 Antikörper gegen Leptospiren, Mikroagglutinations-Test (MAT)

Zur Durchführung des MAT wurde von den 10 häufigsten in der Schweiz bei Tieren vorkommenden Serovaren (sv.) Lebendantigene eingesetzt: *Leptospira interrogans*, sv.: *australis*, *bratislava*, *autumnalis*, *bataviae*, *canicola*, *grippotyphosa*, *icterohämorrhagiae* und *pomona*; *Leptospira borgpetersenii*, sv.: *hardjo* und *tarassovi*. Sowohl der Screeningtest als auch die Bestimmung des Serumtiters wurden nach der von Sudler-Hofer (2000) beschriebenen Methode durchgeführt.

2.2.3.6 Bakteriologische Untersuchung von Harnproben

Von jeder Harnprobe wurde eine Kultur auf Columbia Agar mit 5% Schafblut (PB5039A, Fa. Oxoid, Basel) und Gassner-Medium (O5021A, Fa. Oxoid, Basel) angelegt. Die beimpften Nährmedien wurden während 48 h bei 37 °C in aerober Atmosphäre inkubiert und täglich ausgewertet.

Hemmstoffnachweise wurden auf Testagar pH 6,0 (Merck, Darmstadt, Deutschland) mit Zusatz von 0,1% *Bacillus subtilis* Suspension (Merck, Darmstadt, Deutschland) durchgeführt. Nach einer Inkubationszeit von 12-24 h bei 37 °C in aerober Atmosphäre wurden die Resultate abgelesen und Proben mit Radiushemmzonen von ≥ 4 mm als Hemmstoff positiv bewertet. Zusätzlich wurde von jeder Harnprobe ein Objektträgerausstrich zur mikroskopischen Beurteilung angefertigt und nach Gram gefärbt.

Mussten ausserhalb der Arbeitszeiten des Labores Harnkulturen angelegt werden, wurden dazu Urotubes™ (CLED-, MacConkey- und Cetrimid Agar; Becton Dickinson, Maryland, USA) verwendet. Diese wurden innerhalb von 2-8 Stunden nach der Probeentnahme mit 2-3 ml Urin übergossen und anschliessend während 48 Stunden bei 37 °C in aerober Atmosphäre inkubiert.

Ätiologisch relevante Bakterienspezies wurden nach standardisierten Methoden biochemisch differenziert (Quinn et al., 1994). Die in-vitro Empfindlichkeitsprüfung dieser Bakterien gegenüber antimikrobiellen Wirkstoffen wurde gemäss NCCLS-Richtlinien durchgeführt.

2.2.3.7 Natrium-Dodecyl-Sulfat-Agarose-Gel-Elektrophorese (SDS-AGE)

Die Harnproteine wurden mittels SDS-AGE auf Hydragel 5 Proteinurie® Agarosegel (SEBIA, Issy-les-Moulineaux, Frankreich) entsprechend ihrer Molekularmasse aufgetrennt.

Die Urinproben wurden für die Elektrophorese einzeln in die Vertiefungen des Agarosegels gegeben (5 Vertiefungen pro Gel). In die erste Vertiefung wurde immer eine Kontrolle (Molekulargewichtsmarker: Lysozym 14.3 kDa, Triosephosphat-Isomerase 26.6 kDa, Rinderserumalbumin 66 kDa und menschliches IgG 150 kDa) gegeben. Die elektrophoretische Migration, das Trocknen, Färben, Entfärben und Endtrocknen wurde automatisch durch das Hydrasys® System (SEBIA, Issy-les-Moulineaux, Frankreich) durchgeführt. Die Proteinmuster wurden qualitativ beurteilt. Als normal wurde keine Proteinbande oder eine nur undeutliche Bande im Bereich von 66 kDa (Albumin) beurteilt (Zatelli und Bonfanti 2002). Als glomerulär wurde ein Muster bezeichnet, bei dem eine deutliche Albuminbande oder Banden im Bereich

von Eiweissen, die ein grösseres Molekulargewicht als Albumin aufwiesen, festgestellt wurden. Als tubulär wurde ein Muster bezeichnet, bei dem Eiweisse, die ein Molekulargewicht kleiner als Albumin aufwiesen, festgestellt wurden. Bei einem gemischten Muster lagen Proteinbanden in Bereichen vor, die sowohl kleiner als auch grösser als Albumin waren (Osborne et al., 1995).

2.2.3.8 Mikroalbuminurie-Test

Zum Nachweis von geringen Albuminmengen im Urin wurde der Immunoassay E.R.D.-Screen™-Test (HESKA®, Fribourg, Schweiz) eingesetzt, der bereits Mengen von 1 mg Albumin pro Deziliter Urin nachweisen kann. Der Test wurde mit Hilfe verschiedener Studien validiert (Jensen et al., 2001; Pressler et al., 2001; Vaden et al., 2001; Grauer et al., 2002; Lees et al., 2002; Radecki et al., 2003; Pressler et al., 2003). Für die Testdurchführung wurde 1 ml Urin in ein Teströhrchen gegeben und im Verhältnis zum spezifischen Gewicht mit destilliertem Wasser verdünnt. Nach dem Mischen der Verdünnung wurde der gebrauchsfertige Test-Kit ins Röhrchen gegeben und nach ca. 3 Minuten, spätestens nach 40 Minuten, das Testresultat anhand der Anleitung der Firma HESKA®, abgelesen. Die Resultate lauteten stark, mittel oder leicht positiv und negativ.

2.3 Statistik

2.3.1 Anzahl untersuchte Hunde

Die vom Schweizerischen Klub für Berner Sennenhunde (KBS) kontrollierten Berner Sennenhunde wurden als zu untersuchende Population definiert. Die für eine Aussage über die Häufigkeit von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* in dieser Population nötige Zahl von Hunden wurde mit dem Programm EpiInfo 6.1 (WHO, Genf, 1997) berechnet. Dabei wurde die vom KBS im Jahr 2002 kontrollierte Anzahl Berner Sennenhunde auf 2500 und die Häufigkeit des Vorkommens von Antikörpern gegen Borrelien, gestützt auf Daten aus der Literatur, auf 10% geschätzt (Magnarelli et al., 1987; Greene et al. 1988; Cohen et al., 1988; Hansen und Dietz, 1989; Rodgers et al., 1989; Käsbohrer und Schönberg, 1990; von Weber et al., 1991; Rand et al., 1991; Levy u. Magnarelli, 1992; Mukolwe et al., 1992; Delgado und Cármenes, 1995; Stefancikova et al., 1996; Ciceroni et al., 1997; Rojo et al., 1997; Wright et al., 1997; Baneth et al., 1998; Salinas-Melendez et al., 1999; Egenvall et al., 2000; Merino et al., 2000; Olson et al., 2000). Bei einer Fehlerwahrscheinlichkeit von 5% mussten anhand dieser Berechnung mindestens 131 Berner Sennenhunde untersucht werden, um die Erkrankungshäufigkeit auf 5% genau zu bestimmen.

Die für die Studie nötige Anzahl an Kontrollhunden wurde mit dem Programm WinEpiscopy 2.0 (Nacho de Blas, Zaragossa, Spanien, Online erhältlich), berechnet. Dabei wurde anhand der eigenen Klinikdaten von einer Prävalenz der Antikörper gegen *B. burgdorferi* bei Berner Sennenhunden von 56% und bei anderen Hunden von 16% ausgegangen und die Anzahl der zu untersuchenden Kontrollhunde mit einem Vertrauensintervall von 95% und einer statistischen Güte von 80% berechnet. Dies ergab eine Zahl von mindestens 28 zu untersuchenden Hunden. Wir verdoppelten diese Zahl auf 56, da wir davon ausgingen, dass die Prävalenz an unserer Klinik höher ist, als die Prävalenz in der gesamten Population.

2.3.2 Berechnung einer tieferen UPC-Referenzbereichsgrenze

Ein neuer Referenzbereich des UPC wurde von uns, ausgehend von den UPC-Werten der 62 im Feld untersuchten Kontrollhunde, als Bereich zwischen der fünften und der fünfundneunzigsten Perzentile berechnet (Hüsler et al., 2001). Dies ergab, für die im Feld untersuchten Hunde, die zusätzliche UPC-Referenzbereichsgrenze von 0.3.

2.3.3 Auswertung der Daten

Alle labordiagnostischen Daten, die Informationen aus den Fragebögen und die Abstammungsdaten der Hunde, wurden im Statistik-Programms SPSS (Statistical Package for the Social Science, Software Pakets für Windows Version 11, SPSS Inc., Chicago II, USA) mit nicht parametrischen Tests ausgewertet. Die Parameter wurden mittels Mann-Whitney-U-Test und Chi-Quadrat-Test verglichen. Die Signifikanzgrenze wurde bei einem p-Wert < 0.05 festgelegt.

2.3.4 Auswertung der Abstammungsdaten der Berner Sennenhunde

Die Abstammungsdaten der Berner Sennenhunde wurden mit der Hilfe von PD Dr. G. Dolf, am Institut für Genetik, Ernährung und Haltung von Haustieren der Universität Bern, in Bezug auf das Vorkommen von Proteinurie, mit dem Programm PAP (Pedigree Analysis Package, v5.0, S. Hasstedt, Utah, USA), analysiert. Dazu wurde jeder Hund im Zusammenhang mit seinen Eltern, dem Zustand-Wert „zum Zeitpunkt der Probeentnahme Proteinurie/ keine Proteinurie“ und seinem Alter mit PAP auf 4 mögliche Vererbungs-Modelle geprüft: a) Umweltmodell, b) ein Hauptgen verantwortlich, c) polygene Vererbung und d) Mixed-Inheritance Modell (Gemisch aus polygenem Erbgang und Umwelteinflüssen). Dabei wurde rechnerisch geprüft, ob sich eines der drei genetischen Modelle vom Umweltmodell unterscheidet.

3 Resultate

Die zu den Resultaten gehörenden Tabellen und Grafiken sind im Anhang aufgeführt.

3.1 Hunde

Im Feld wurden 160 Berner Sennenhunde und 62 Kontrollhunde untersucht. Weiter wurden 88 Berner Sennenhunde mit verschiedenen Erkrankungen, die an der Klinik für Kleintiermedizin der Vetsuisse-Fakultät, Universität Zürich vorgestellt wurden, in die Studie aufgenommen. Zudem wurden 18 Hunde anderer Rassen mit Proteinurie untersucht.

3.1.1 Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde

Alter und Geschlecht der untersuchten 160 Berner Sennenhunde sind in Tabelle 1 angegeben.

Bei 2 Berner Sennenhunden konnte keine Urinprobe entnommen werden, da zum Zeitpunkt der geplanten Probeentnahme die Harnblase leer war.

3.1.2 Im Feld untersuchte Kontrollhunde

56 der 62 untersuchten Kontrollhunde gehörten 8 verschiedenen, langhaarigen, in Körpergrösse dem Berner Sennenhund ähnlichen, Rassen an. Die restlichen 6 Hunde waren Mischlinge, mit Collie, Deutschem Schäferhund oder Flat-Coated Retriever als dominierende Rassen. Rasse, Alter, Geschlecht, und Fellfarbe der Hunde sind in Tabelle 1 aufgeführt.

3.1.3 An der Klinik untersuchte Hunde

Alter, Geschlecht und das Vorkommen von Proteinurie der 88 erfassten Berner Sennenhunde sind in Tabelle 2 angegeben.

Davon zeigten 12 ein UPC > 1 bei einem inaktiven Harnsediment. Alter und Geschlecht dieser Hunde sind in Tabelle 3 aufgeführt.

Weiter wurden 18 Hunde anderer Rassen mit Proteinurie bei einem inaktiven Harnsediment erfasst. 15 dieser 18 Hunde gehörten 12 verschiedenen Rassen an, von denen jede maximal durch 2 Hunde vertreten war. 3 Hunde sind Mischlinge. Rasse, Alter und Geschlecht dieser Hunde sind ebenfalls in Tabelle 3 aufgeführt.

3.2 Geographische Verteilung der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Die Proben der Hunde wurden vor allem in der deutschsprachigen Schweiz mit Ausnahme des Kantons Graubünden gesammelt (Abbildung 1).

3.3 Anamnese der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Die Anamnese der Hunde wurde mit Hilfe eines Fragebogens erfasst. Die Antworten der Hundebesitzer sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Auf die Frage, ob der Hund oft Zecken habe, antworteten signifikant mehr Berner Sennenhunde Besitzer mit ja als Besitzer von Kontrollhunden.

3.4 Hämatologie und Blutchemie der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 5 und 6 zusammengefasst. Obwohl bei verschiedenen Hunden einzelne Blutwerte aus dem Referenzbereich abwichen, musste aufgrund der Blutuntersuchung nur ein Berner Sennenhund aus der Studie ausgeschlossen werden. Er wies eine starke Azotämie auf.

Bei 14 der 160 Berner Sennenhunde und bei 5 der 62 Kontrollhunde konnte keine Hämatologie durchgeführt werden, weil die Blutproben geronnen waren. Bei 20 Berner Sennenhunden und bei 36 Kontrollhunden konnte wegen Hämolyse kein Bilirubin und bei 5 Berner Sennenhunden und 5 Kontrollhunden kein Kalium bestimmt werden.

3.5 Antikörper gegen *B. burgdorferi*

3.5.1 Vergleich mit Antikörpern gegen Leptospiren

Bei 222 Hunden aus allen Untersuchungsgruppen, die auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* untersucht wurden, wurden Antikörper gegen Leptospiren bestimmt. Anhand dieser Resultate sollte beurteilt werden, ob Kreuzreaktionen im Borrelien-ELISA mit Leptospiren möglich waren. Von 105 Hunden, die Antikörper gegen *B. burgdorferi* hatten, hatten 62 Antikörper gegen Leptospiren. Von den restlichen 117 Hunden, die keine Antikörper gegen *B. burgdorferi* hatten, hatten 58 Antikörper gegen Leptospiren. Hunde mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi* hatten nicht signifikant häufiger Antikörper gegen Leptospiren als Hunde ohne Antikörper gegen *B. burgdorferi*.

3.5.2 Vergleich zum Westernblot

Von den 328 Hunden aller Untersuchungsgruppen, wurde bei 313 das Resultat des Borrelien-ELISA durch Westernblot überprüft.

Von 192 dieser 313 Hunde, die im ELISA Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen, waren 142 (74%) im Westernblot positiv. Von den 104 Hunden, die im ELISA keine Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen, waren 8 (8%) im Westernblot positiv. 50 Hunde waren im ELISA positiv und im Westernblot negativ und 96 in beidem negativ. Mit dem Westernblot als Goldstandard ergibt dies eine Sensitivität von 95% und eine Spezifität von 66% für den von uns verwendeten Borrelien-ELISA.

Die Resultate der Untersuchungen auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* sind in Tabelle 7 aufgeführt.

3.5.3 Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Bei 160 untersuchten Berner Sennenhunden und 61 Kontrollhunden wurden Untersuchungen auf Antikörper gegen *B. burgdorferi* mittels ELISA und Westernblot durchgeführt. Von einem Kontrollhund konnte kein Westernblot durchgeführt werden. Während von den 160 Berner Sennenhunden 94 (59%) einen positiven oder fraglichen ELISA Test mit einem positiven Westernblot aufwiesen, war dies nur bei 11 (18%) der 62 Kontrollhunden der Fall. Die genauen Untersuchungsergebnisse, auch in Bezug auf das Geschlecht der Hunde und die Fellfarbe der Kontrollhunde, sind in Tabelle 8 aufgeführt. Die dunkelhaarigen im Feld untersuchten Hunde hatten signifikant häufiger Antikörper gegen Borrelien (56%), als die hellhaarigen (11%). Berner Sennenhunde, von denen die Besitzer angaben, dass sie oft mit Zecken befallen waren, wiesen signifikant häufiger Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf, als diejenigen, bei denen der Besitzer angab, sie hätten selten Zecken. Kontrollhunde, von denen die Besitzer angaben, dass sie oft mit Zecken befallen waren, wiesen nicht häufiger Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf, als diejenigen, bei denen der Besitzer angab, sie hätten selten Zecken (Tabelle 9).

3.5.4 An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde und andere Hunde mit Proteinurie

Bei 12 der 88 Berner Sennenhunde und bei 2 der 18 Hunde mit Proteinurie konnte keine oder nur eine unvollständige Borrelienserologie durchgeführt werden. Von den 76 untersuchten Berner Sennenhunden waren 38 (50%) ELISA positiv oder fraglich positiv und Westernblot positiv. Von den 16 untersuchten Hunden anderer Rassen mit Proteinurie waren 3 (19%) ELISA positiv oder fraglich positiv und Westernblot positiv. Die genauen Untersuchungsergebnisse, auch in Bezug auf das Geschlecht der Hunde, sind in Tabelle 10 aufgeführt.

3.5.5 Antikörper gegen *B. burgdorferi* und Impfung gegen Borreliose

Vier im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und 6 Kontrollhunde waren gegen Borreliose geimpft. Von den 4 Berner Sennenhunden waren alle im ELISA positiv, aber nur 3 auch im Westernblot. Von den Kontrollhunden waren 4 im ELISA und im Westernblot negativ und 2 in beiden Tests positiv.

3.6 Proteinurie

3.6.1 Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Von den 158 auf Proteinurie untersuchten Berner Sennenhunden hatten 3 (1.9%) ein $UPC > 1$ bei einem inaktiven Harnsediment (UPC_1 1.45, UPC_2 1.62; UPC_3 1.89). Ein Berner Sennenhund hatte ein $UPC > 1$ bei einem aktiven Sediment (Bakteriurie und Pyurie). Von den 62 untersuchten Kontrollhunden hatte keiner ein $UPC > 1$.

Von den 158 untersuchten Berner Sennenhunden hatten 11 (7%) ein $UPC > 0.3$ bei einem inaktiven Harnsediment. Unter den restlichen 147 Berner Sennenhunden hatte es 5 Hunde mit einem $UPC > 0.3$, die aber ein aktives Harnsediment hatten. Von den

62 Kontrollhunden hatten 3 (5%) ein UPC > 0.3. Alle Kontrollhunde mit einem UPC > 0.3 hatten ein inaktives Harnsediment. Die genauen Untersuchungsergebnisse der Hunde mit einem UPC > 0.3 sind in Tabelle 11 aufgeführt.

3.6.1.1 Mikroalbuminurie der im Feld untersuchten Hunde

Bei 150 der 160 Berner Sennenhunde und bei 55 der 62 Kontrollhunde wurde das Vorkommen von Albumin im Urin mittels eines Mikroalbuminurie-Tests bestimmt. Die Untersuchungsergebnisse sind in Tabelle 12 aufgeführt. Von den 150 untersuchten Berner Sennenhunden hatten 139 ein UPC < 0.3. Von diesen 139 Berner Sennenhunden waren 22 (16%) im Mikroalbuminurie-Test positiv. Von den 55 Kontrollhunden hatten 53 ein UPC < 0.3. Von diesen 53 Kontrollhunden waren 8 (15%) im Mikroalbuminurie-Test positiv. Berner Sennenhunde mit einem UPC < 0.3 hatten nicht häufiger einen positiven Mikroalbuminurie-Test als Kontrollhunde.

3.6.1.2 SDS-AGE der Harnproteine der im Feld untersuchten Hunde

Bei 66 der 160 untersuchten Berner Sennenhunden und bei 22 der 62 Kontrollhunden wurde das Proteinmuster im Urin mittels SDS-AGE untersucht. Bei den restlichen Hunden konnte keine SDS-AGE der Harnproteine durchgeführt werden, da eine zu kleine Urinprobe zur Verfügung stand. Bei 62 (94%) der Berner Sennenhunde und allen Kontrollhunden wurden entweder keine Proteinbanden oder eine undeutliche Bande im Bereich von 66 kDa (Albumin) festgestellt. Davon 6 Berner Sennenhunde und ein Kontrollhund mit einem UPC > 0.3. Drei Berner Sennenhunde wiesen ein glomeruläres Proteinmuster auf. Zwei davon zeigten ausschliesslich eine deutliche Albuminbande (66 kDa). Einer davon hatte ein tiefes UPC (0.08) und einen negativen Mikroalbuminurie-Test. Ein BSH wies ein gemischtes Proteinmuster auf. Alle vier Hunde mit einem abnormalen Proteinmuster im Urin wiesen Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf. Aus den Untersuchungsergebnissen geht hervor, dass keine signifikanten Unterschiede im Vorkommen von abnormalen Proteinmustern bestand zwischen Berner Sennenhunden und Kontrollhunden. Die Untersuchungsergebnisse der SDS-AGE sind in Tabelle 13 zusammengefasst.

3.6.2 An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde und andere Hunde mit Proteinurie

Bei 13 der 88 Berner Sennenhunden wurde kein UPC bestimmt. Von den 75 untersuchten Berner Sennenhunden hatten 12 ein UPC > 1, bei einem inaktiven Harnsediment (Tabelle 14). Von den restlichen 63 Berner Sennenhunden hatte einer ein UPC > 1 mit Bakteriurie und Pyurie und 8 hatten ein UPC > 1 mit Pyurie. Weiter wurden zwischen Mai 2002 und Mai 2003 an der Klinik 18 Hunde anderer Rassen mit einem UPC > 1, bei einem inaktiven Harnsediment, untersucht (Tabelle 14).

3.7 Proteinurie und Antikörper gegen *B. burgdorferi*

3.7.1 Im Feld untersuchte Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Bei allen 3 Berner Sennenhunden mit einem UPC > 1, bei einem inaktiven Harnsediment, konnten Antikörper gegen *B. burgdorferi* nachgewiesen werden.

Von den 11 Berner Sennenhunden mit einem UPC > 0.3, bei einem inaktiven Harnsediment, wiesen 9 (82%) Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf und 2 (18%) hatten keine Antikörper. Von den 3 Kontrollhunden mit einem UPC > 0.3, hatte einer Antikörper gegen *B. burgdorferi*.

Es bestand kein Unterschied in der Proteinausscheidung zwischen Hunden mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi* und Hunden ohne Antikörper gegen *B. burgdorferi*

3.7.2 An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde mit Proteinurie und Hunde anderer Rassen mit Proteinurie

Von den 12 Berner Sennenhunden mit Proteinurie wiesen 5 (42%) Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf.

Von den 18 anderen Hunden mit Proteinurie wurde bei 16 eine Borrelienserologie durchgeführt. Davon hatten 3 (19%) Antikörper gegen *B. burgdorferi*.

3.8 Stammbaumanalyse der Berner Sennenhunde

Für die Stammbaumanalyse wurden 331 Berner Sennenhunde berücksichtigt. Alle 331 Berner Sennenhunde sind untereinander verwandt und wurden entsprechend einer einzigen Familie zugeteilt. 65 Hundezwinger waren durch mehrere und 73 Hundezwinger nur durch einen Berner Sennenhund vertreten. 11 der 331 Berner Sennenhunde zeigten zum Zeitpunkt der Datenerfassung eine Proteinurie, 147 hatten keine Anzeichen von Proteinurie und bei 172 Berner Sennenhunden war der Phänotyp, „Proteinurie“ oder „keine Proteinurie“, unbekannt.

Die Analyse der Daten mit dem Computer-Programm PAP (siehe Material und Methode) ergab, dass sich sowohl das Modell mit einem Hauptgen, das polygene Modell, als auch das Mixed-Inheritance Modell nicht vom Umweltmodell unterschieden.

4 Diskussion

4.1 Antikörper gegen *B. burgdorferi*

4.1.1 Prävalenz

Die Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* bei Berner Sennenhunden war mit 59% höher als in den meisten anderen bisher publizierten Arbeiten. Auf Grund von Literaturangaben wurde in dieser Studie von einer Prävalenz von 10% ausgegangen. Diese Zahl war der Median von verschiedenen Studien, in denen bei 0% bis 76% der Hunde Antikörper gefunden wurde (siehe Abschnitt 2.3.1). Nur in einer dieser Studien lag die Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* mit 76% höher als die 59% der in der vorliegenden Studie untersuchten Berner Sennenhunde (Magnarelli et al., 1987). Im Unterschied zur vorliegenden Arbeit, wurden dort aber nicht gesunde Hunde, sondern Hunde mit Lahmheit, Fieber, Anorexie und Schwäche untersucht. Zudem stammte diese Studie aus den USA, wo bekanntlich andere Genospezies von *B. burgdorferi* als in der Schweiz vorkommen (Greene et al., 1998). Auch in anderen Studien über Hunde aus endemischen Gebieten der USA wurden Prävalenzen von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* von über 50% beschrieben (Burgess 1986, Levy et al., 1992, Levy et al., 2002). In Europa wurde nur in einer Studie bei gesunden Hunden eine ähnlich hohe Prävalenz von *B. burgdorferi* Antikörpern gefunden (51%). Diese Studie wurde in der Region Midi-Pyrénées in Frankreich, in der Lyme-Borreliose endemisch vorkommt, durchgeführt (Euzéby, 1988). Angaben zur Rasse der Hunde wurden keine gemacht. In anderen Studien aus Europa jedoch liegt die Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* im Bereich von 10%-30% (Doby et al., 1988; Hansen und Dietz, 1989; Delgado und Cármenas, 1995; Stefancikova et al., 1996; Davoust und Boni, 1998; Merino et al., 2000; Goossens et al., 2001). Dies entspricht dem Bereich der Kontrollhunde in der vorliegenden Studie, ist aber bedeutend tiefer als bei Berner Sennenhunden. In einer früheren Studie aus der Schweiz (Pfister et al., 1989) wiesen nur 9% der gesunden Hunde, die untersucht wurden einen positiven indirekten Immunfluoreszenz-Antikörper-Test für Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf, was bedeutend tiefer ist als die 18% der Kontrollhunde. Leider wurde in dieser Studie weder das Alter noch die Rasse der Hunde, die untersucht wurden angegeben. Unterschiedliche Testverfahren könnten für eine solche Differenz verantwortlich gemacht werden, da bei serologischen Test zum Teil grosse Differenzen auftraten (Greene, 1990, Henegge, 2003). In einer Studie wurde zum Beispiel festgestellt, dass ein ELISA-Test signifikant sensitiver als ein indirekter Immunfluoreszenz-Test war (Lindenmayer et al., 1990).

4.1.2 Infektionsrate der Zecken

Hinweise dafür, dass sich der Infektionsdruck in den letzten Jahren verstärkt haben könnte, bestehen keine. In der Schweiz wurden bereits 1986 in 5%-34% der *I. ricinus* Zecken Borrelien gefunden, wobei keine der untersuchten Zeckenpopulationen frei von Borrelien war (Aeschlimann et al., 1986). Diese Zahlen konnten durch spätere Studien bestätigt werden und blieben stabil. Péter et al. (1995) zeigten, dass 30.4% der *I. ricinus* im Wallis mit *B. burgdorferi* infiziert waren. Jouda et al. (2003) fanden, dass 5%-19% *I. ricinus* im Kanton Tessin befallen waren, ähnlich wie in einer früheren Untersuchung, bei der eine Befallsrate von 25% bei adulten Zecken und

36% bei Nymphen in diesem Kanton gefunden wurden (Miserez et al., 1990). Jouda et al. (2004_b) fanden in der Umgebung von Neuenburg, dass 21% der Nymphen und 30% der adulten Zecken mit *B. burgdorferi* infiziert waren. In dieser Studie konnte auch gezeigt werden, dass die Prävalenz der Infektion von Zecken mit *B. burgdorferi* mit zunehmender Höhe abnimmt. Wicki et al. (2000) fanden in 27% der Zecken, die sie in verschiedenen Regionen der Schweiz gesammelt hatten *B. burgdorferi* und Jouda et al. (2004_b) in 9%-40% der Nymphen und in 22%-47% der adulten Zecken an 11 verschiedenen Orten der Schweiz. Mit Ausnahme einer einzigen Studie aus dem Kanton Tessin bei der mit 2% eine wesentlich tiefere Infektionsrate der Zecken gefunden wurde (Bernasconi et al., 1997), bewegte sich der Anteil der infizierten Zecken über all die Jahre im Bereich der von Aschlimann et al. (1986) gefundenen Zahlen. Auch in Süddeutschland wurde in 22% der *I. ricinus* Zecken Borrelien nachgewiesen (Baumgarten et al., 1999). In den oben erwähnten Studien wurde auch gezeigt, dass in allen Regionen Zecken mit Borrelien befallen waren, aber die Verteilung der Genospezies unterschiedlich ist (Humair et al., 1995; Péter et al., 1995; Jouda et al., 2003, Jouda et al., 2004_a).

4.1.3 Zeckenexposition

Beim Mensch wurde in einer Gruppe von Risikopersonen (Orientierungsläufern) bei 26% IgG Antikörper gegen *B. burgdorferi* gefunden, während in zwei Kontrollgruppen 4% respektive 6% der Menschen Antikörper aufwiesen (Fahrer et al., 1991). In einer Studie bei Hunden wurde gezeigt, dass Jagdhunde, die sich vermehrt in von Zecken besiedelten Umgebungen wie Wäldern aufhalten nicht häufiger Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen als Begleithunde, die sonst auf dem Land lebten (18% versus 17%; Goossens et al., 2001). Da sich die Population der Berner Sennenhunde und die Population der Kontrollhunde in dieser Studie aus denselben Regionen der Schweiz rekrutierten und wie oben erwähnt in allen Regionen infizierte Zecken gefunden wurden, waren Berner Sennenhunde nicht einem grösseren Risiko ausgesetzt. Trotzdem waren Berner Sennenhunde im Vergleich zu anderen Hunderassen häufiger mit Zecken befallen. Ein Hund, der mehr Zecken aufweist als ein anderer hat auch die grössere Chance, eine Zecke zu beherbergen, die mit Borrelien infiziert ist (Guerra et al., 2001). Als möglicher Grund für den häufigeren Zeckenbefall der Berner Sennenhunde wurde das dunkle Haarkleid vermutet. In einem dunklen Haarkleid, wie dem der Berner Sennenhunde, könnten Zecken vom Besitzer weniger schnell entdeckt und entfernt werden als bei hellhaarigen Hunden. Dadurch hätten die Borrelien länger die Gelegenheit, vom Vektor auf den Wirt überzugehen und die Hunde zu infizieren (Shih et al., 1993; DeSilva et al., 1996; Crippa et al., 2002). Bei den Kontrollhunden konnte gezeigt werden, dass dunkelhaarige signifikant häufiger Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen, als hellhaarige (33% gegenüber 10%). Verglich man aber die dunkelhaarigen Kontrollhunde mit den Berner Sennenhunden konnte festgestellt werden, dass auch sie signifikant weniger Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen als Berner Sennenhunde, obwohl zwischen ihnen und den Berner Sennenhunden kein Unterschied bezüglich der Häufigkeit des Zeckenbefalls festgestellt wurde. Daraus kann geschlossen werden, dass die Fellfarbe, nicht die Erklärung für die höhere Prävalenz von Antikörpern bei Berner Sennenhunden sein kann.

4.1.4 Tests für Antikörper gegen *B. burgdorferi*

Die Spezifität von Ganzzell-ELISA Tests ist wegen dem Vorkommen von Kreuzreaktionen herabgesetzt (Magnarelli et al., 2000). Der Grund dafür ist die Ähnlichkeit von Antigenen von *B. burgdorferi* und anderen Spirochäten und Bakterien, die zur natürlichen Mikroflora der Hunde gehören oder als pathogene Keime vorkommen. Das ELISA Testverfahren, das für diese Studie gewählt wurde hat den Vorteil, dass möglicherweise kreuzreagierende Antikörper gegen verschiedene Bakterien vor dem Test absorbiert wurden und dadurch die Spezifität erhöht wurde (Wittenbrink et al., 1996). Zusätzlich wurde bei den Hunden noch ein Mikroagglutinations-Test für Antikörper gegen Leptospiren durchgeführt, um Kreuzreaktionen zu überprüfen. Dabei konnte gezeigt werden, dass Kreuzreaktionen gegen Leptospiren in der Gruppe der Hunde mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi* und der Gruppe der Hunde ohne Antikörper gegen *B. burgdorferi* nicht unterschiedlich häufig waren. Die Spezifität der ELISA-Tests konnte auch erhöht werden, in dem rekombinante *B. burgdorferi* Proteine (zBsp. VlsE: Vmp-like sequence, Expressed) oder synthetische Peptide (zBsp. die IR6 Sequenz aus dem VlsE Protein: C6-Peptid) als Antigene für den ELISA verwendet wurden. In einer Studie war der C6-ELISA gleich sensitiv und spezifisch wie ein Ganzzell-ELISA zusammen mit einem Westernblot. Der C6-ELISA hatte aber den Vorteil, dass keine positiven Reaktionen entstanden bei geimpften Tieren, während bei den herkömmlichen Tests nur mittels Westernblot festgestellt werden konnte, ob eine Impfung die Ursache des positiven ELISA-Tests war (Levy et al., 2002). In der Schweiz werden Hunde selten gegen Borreliose geimpft. In der vorliegenden Studie waren nur zehn Hunde geimpft, so dass dieser Aspekt bei der Beurteilung der Resultate wenig ins Gewicht fiel.

Verschiedene Empfehlungen werden gegeben, wie Westernblot-Resultate bewertet werden sollen (Littman, 2003). Für die Auswertung der Westernblots in dieser Studie wurden die Empfehlungen von Hauser et al., (1997) verwendet. Sie basierten auf der Erkenntnis, dass in Europa andere Borrelienstämme vorkommen als in den USA und dass die Antikörperantwort auf Borrelienstämme in Europa geringer ausfielen als auf solche aus den USA. In einer Studie aus den USA zum Beispiel wurde ein Westernblot nur als positiv beurteilt, wenn zwei oder mehr Banden im Bereich von 14 kD bis 30 kD festgestellt wurden (Levy et al., 2002). Wären in dieser Studie diese Kriterien berücksichtigt worden, wären 37% weniger Hunde als Träger von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* bezeichnet worden. Die Korrelation des ELISA mit dem Westernblot hätte sich auch verschlechtert. Der Anteil der im ELISA nicht aber im Westernblot positiven Proben wäre von 34% auf 50% gestiegen. Da der in dieser Studie verwendete ELISA den Anteil an Kreuzreaktionen durch die Absorption kreuzreagierender Antikörper verringert und die Spezifität erhöht wurde (Wittenbrink et al., 1996) ist anzunehmen, dass die geringere Rate an falsch positiven Resultaten der Wirklichkeit entspricht. Diese Zahlen zeigen deutlich, dass positive ELISA Resultate durch Westernblot bestätigt werden müssen. In einer Studie in einer endemischen Gegend in den USA wurden im ELISA 84% mehr positive Fälle gefunden als im Westernblot, wobei $\frac{4}{5}$ davon mittels Westernblot als Impftiter beurteilt wurden (Guerra et al., 2000). Banden im Bereich von OspA und weniger deutlich auch von OspB wurden häufiger bei geimpften Hunden festgestellt als bei nicht geimpften Hunden (Gauthier et al. 1999; Guerra et al., 2000; Levy et al., 2002; Littman, 2003). Bei den geimpften Hunden in der vorliegenden Studie konnte nur gerade bei einem eine positive Bande im Bereich des Partialantigens OspB festgestellt werden. Eine Erklärung dafür könnte eine länger zurückliegende Impfung

sein, wobei der Zeitpunkt der Impfung der Hunde nicht bekannt war. Wie lange Antikörper gegen Impfungen nachgewiesen werden können ist nicht bekannt, es wurde von Monaten bis Jahren gesprochen (Greene et al., 1998).

4.1.5 Immunabwehr

Bekanntlich können sich Borrelien dem Immunsystem auf verschiedenen Wegen entziehen (Alitalo et al., 2001). Es ist aber unwahrscheinlich, dass sie einen Mechanismus besitzen, um spezifisch das Immunsystem der Berner Sennenhunde nicht aber dasjenige anderer Hunderassen zu umgehen. Eher wahrscheinlich ist, dass Berner Sennenhunde einen Protein- oder Enzymdefekt aufweisen, der ihnen verunmöglicht, die Borrelien aus dem Körper zu eliminieren. Das unspezifische Immunsystem spielt eine wichtige Rolle bei der frühen Abwehr von Borrelien (Sjöwall et al., 2005) spielt aber auch eine Rolle bei der Entstehung gewisser glomerulärer Erkrankungen. Hunde mit einem genetisch bedingten Mangel an C3 zeigten vermehrtes Vorkommen von Nieren- und Infektionserkrankungen (Blum et al., 1985). Fünf von 20 Hunden mit absolutem C3-Mangel entwickelten klinisch erkennbare Niereninsuffizienzen, von den restlichen 15 zeigten 14 histologische Anzeichen von membranoproliferativer Glomerulonephritis. Keiner der Hunde wies im Serum Immunkomplexe auf (Cork et al., 1991). Beim Mensch führte ein Autoantikörper gegen die C3-Konvertase zu Hypokomplementämie. Dieser Autoantikörper wird „C3 nephritischer Faktor“ genannt und wurde häufig bei membranoproliferativer Glomerulonephritis gesehen (Jelesarova et al., 2001). Das Vorkommen eines „nephritischen Faktors“, der gleichzeitig die primäre Abwehr gegen Borrelien behindert und zu Glomerulonephritis führt, wäre eine mögliche Erklärung für das gleichzeitige Auftreten von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* und Glomerulonephritis bei Berner Sennenhunden. Beim C3 nephritischen Faktor wurde Komplement C3 verbraucht und wies dadurch einen tiefen Plasmaspiegel auf (Jelesarova et al., 2001). Dies konnte beim Berner Sennenhund bisher nicht nachgewiesen werden.

4.2 Proteinurie

In dieser Studie wurde Proteinurie als Marker für eine glomeruläre Erkrankung verwendet. Proteinurie ist die Bezeichnung für eine abnormal erhöhte Ausscheidung von Eiweissen über den Urin (Lees et al., 2005). Die Herkunft der Proteine ist aber damit noch nicht geklärt. Glomeruläre Proteinurie wird vermutet, wenn prä- und postrenale Ursachen für Proteinurie ausgeschlossen wurden und wenn die renale Proteinurie mit grosser Wahrscheinlichkeit nicht tubulär oder funktionell ist. Eine funktionelle renale Proteinurie kann vermutet werden, wenn die Proteinurie nur vorübergehend ist (Lees et al., 2005). Tubuläre und glomeruläre renale Proteinurien sind nicht leicht zu unterscheiden mittels quantitativer oder semiquantitativer Tests, speziell wenn die Proteinurie geringgradig ist. SDS Gel-Elektrophorese Methoden werden angewandt um die Urinproteine nach ihrem Molekulargewicht aufzutrennen. Die Grösse und das Molekulargewicht der Eiweisse lassen Schlüsse auf die Ursache der Proteinurie zu (Müller-Peddinghaus und Trautwein, 1977) und damit kann die Nierenerkrankung lokalisiert werden.

4.2.1 Protein-Kreatinin-Quotient im Urin (UPC)

In dieser Studie wurden drei verschiedene Methoden der Proteinbestimmung im Urin verwendet, mit dem Ziel, erhöhte Eiweissausscheidung und damit Anzeichen für eine glomeruläre Erkrankung zu entdecken. Zu Beginn wurde ein UPC von > 1 als Einschlusskriterium verwendet. Diese willkürliche Grenze wurde in Textbüchern empfohlen (Grauer und DiBartola, 2000). Ein $\text{UPC} \geq 1$ bei der Erstuntersuchung wurde mit einem erhöhten Risiko für Morbidität und Mortalität auf Grund einer Urämie in Verbindung gebracht (Jacob et al., 2005). In dieser Studie wurden UPC-Werte weit unter 1 festgestellt. Deshalb wurde versucht die Sensitivität des Tests zu erhöhen, indem, basierend auf den Daten aus der Kontrollhundepopulation, ein neuer UPC-Grenzwert (0.3) berechnet wurde. Dieser Wert entspricht Angaben in der Literatur, wo empfohlen wurde UPC-Werte zwischen 0.3 und 1 als fraglich positiv zu beurteilen (Finco, 1995).

In dieser Studie hatten unter den ausserhalb der Klinik erfassten Hunden nur 3 Berner Sennenhunde eine deutliche Proteinurie ($\text{UPC} > 1$) bei einem inaktiven Harnsediment. Deutliche Proteinurie als Zeichen einer Glomerulopathie bei klinisch gesunden Berner Sennenhunden in der Schweiz war also selten. Verglich man die UPC-Werte der Berner Sennenhunde im Feld mit denen der Kontrollhunde gab es keinen Unterschied. Viele Berner Sennenhunde hatten ein $\text{UPC} < 0.3$ und der prozentuale Anteil der Berner Sennenhunde mit einem $\text{UPC} > 0.3$ stimmte mit dem der Kontrollhunde überein.

4.2.2 Mikroalbuminurie-Test

Auch feinere Messmethoden halfen nicht, einen Unterschied zwischen Berner Sennenhunden und Kontrollhunden oder zwischen Hunden mit und ohne Antikörper gegen *B. burgdorferi* festzustellen. In 16% der Hunde mit einem $\text{UPC} < 0.3$ war der Mikroalbuminurie-Test zwar positiv aber es bestand kein Unterschied zwischen den Berner Sennenhunden und den Kontrollhunden. Zwischen den beiden Gruppen stimmte nicht nur der Anteil der Hunde mit einem insgesamt positiven Testresultat überein, sondern auch der jeweilige Anteil von Hunden mit einem Testresultat, das als leichtgradig, mittelgradig oder hochgradig positiv beurteilt wurde.

Mikroalbuminurie beim Hund ist definiert als ein Albumingehalt von 1 und 30 mg/dl im Urin. Der in dieser Studie verwendete Mikroalbuminurie-Test ist ein semiquantitativer Test, der Albumin im Urin ab 1 mg/dl entdecken soll. Es konnte gezeigt werden, dass dieser Test bei Hunden mit erblicher, progressiver Glomerulopathie ein zuverlässiger Indikator für die Entwicklung einer Proteinurie war (Lees et al., 2002). Leider wiesen sehr häufig auch gesunde Hunde einen positiven Test auf. In einer Population von 86 klinisch gesunden Hunden zeigten 19% Mikroalbuminurie (Jensen et al., 2001) und in einer anderen Studie wiesen 24.7% von 3041 Hunden einen positiven Mikroalbuminurie-Test auf, wobei die Häufigkeit mit dem Alter zunahm (Radecki et al., 2003). Auch in der vorliegenden Studie nahm der Anteil an Hunden, die einen positiven Mikroalbuminurie-Test aufwiesen mit dem Alter zu. Beim Mensch wird Mikroalbuminurie auch in Zusammenhang mit anderen Erkrankungen wie Herz-Kreislauf Erkrankungen und Entzündungen gebracht. Bei Labrador Retrievern wurde ein Zusammenhang zwischen einem positiven Mikroalbuminurie-Test und Antikörpern gegen *B. burgdorferi* gesucht. Auch dort wurde festgestellt, dass kein Zusammenhang besteht (Goldstein et al., 2005). Daraus wurde der erstaunliche Schluss gezogen, dass der Mikroalbuminurie-Test geeignet sei, Hunde im

Frühstadium einer Lyme-Nephritis zu identifizieren. Dieser Schluss erscheint nicht zulässig. Wie bei den hier vorliegenden Daten kann nur geschlossen werden, dass Mikroalbuminurie nicht häufiger vorkommt bei Hunden mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi*.

4.2.3 SDS-AGE

In der vorliegenden Studie wurde bei einem Teil der Hunde mit Proteinurie mittels SDS-AGE das Proteinmuster der Eiweisse im Urin bestimmt. Der verwendete SDS-AGE-Test wurde als geeignet betrachtet zur qualitativen Beurteilung von Eiweissen im Urin von Menschen und Hunden (LeBricon et al., 1998; Zatelli und Bonfanti, 2002). In einer Studie wurde der Test bei 14 Hunden durchgeführt, bei denen gleichzeitig eine Nierenbiopsie entnommen wurde. Bei allen Hunden war die Untersuchung der Biopsie mittels Lichtmikroskopie, Immunhistochemie und Immunfluoreszenz normal. Die Untersuchung des Harns mittels SDS-AGE zeigte ausschliesslich eine undeutliche Bande im Bereich von Albumin oder keine Bande (Zatelli und Bonfanti, 2002). In einer anderen Studie wurde bei 49 Hunden mit Nierenerkrankungen eine Sensitivität von 100% für histologisch bestätigte glomeruläre Erkrankungen festgestellt (Zini et al., 2004). Die Spezifität war aber nur 40%, so dass mit falsch positiven Resultaten gerechnet werden muss. In der hier vorliegenden Studie konnte bei den meisten Hunden mit einem UPC > 0.3 keine abnormale Elektrophorese festgestellt werden. Diese negativen SDS-AGE Elektrophoreseresultate könnten im Zusammenhang mit unserem tiefen UPC-Grenzwert stehen. Bei den Hunden mit einem UPC > 1 konnte in jedem Fall eine verändertes Elektrophoresemuster festgestellt werden.

Auf der anderen Seite zeigte ein 4-jähriger Berner Sennenhund mit einem UPC von 0.08 und einem negativen Mikroalbuminurie-Test ein glomeruläres Muster (deutliche Bande im Bereich von Albumin). Dies ist der einzige Hund, bei dem durch eine SDS-AGE Untersuchung des Harns möglicherweise eine zusätzliche Information gewonnen werden konnte. Ob es sich dabei um ein frühes Anzeichen einer Glomerulopathie oder um ein falsch positives Resultat handelt könnten histologische Untersuchungen klären. In einer Studie konnte aber gezeigt werden, dass histologische Veränderungen nicht immer festzustellen waren, wenn abnormale Proteinbanden gefunden wurden (Bonfanti et al., 2004). Dabei handelte es sich aber um freie Leichtketten im Urin, die gefunden wurden, ohne dass morphologische oder funktionelle Veränderungen der Nieren gesehen werden konnten.

4.2.4 Geschlecht

In der gesamten Population der im Feld untersuchten Berner Sennenhunden waren männliche Hunde in der Minderheit (45 von 160; 28%). Bei denjenigen mit einem UPC > 0.3 überwogen die männlichen aber deutlich (9 von 11; 82%). Im Gegensatz dazu waren in der Studie von Reusch et al. (1994) über Berner Sennenhunde mit familiärer Glomerulopathie weibliche Hunde übervertreten (18 von 22: 82%). Warum in dieser Studie hier männliche Hunde mit einem UPC > 0.3 überwiegen ist nicht klar. Eine geschlechtsspezifische postglomeruläre, zum Beispiel durch Prostatasekrete bedingte, Erhöhung des UPC ist unwahrscheinlich, da gemäss DiBartola (2005_a) das UPC nicht durch das Geschlecht beeinflusst wird und alle Hunde kastriert waren.

4.3 Berner Sennenhunde im Feld und Berner Sennenhunde an der Klinik

4.3.1 Häufigkeit von Proteinurie

In dieser Studie wurde Protein im Urin als Marker für glomeruläre Erkrankungen verwendet, dabei konnte kein Unterschied zwischen Berner Sennenhunden und Kontrollhunden festgestellt werden. Trotzdem wurden in der Untersuchungsperiode an der Klinik deutlich mehr Berner Sennenhunde als Hunde anderer Rassen mit deutlicher Proteinurie vorgestellt. Bei diesen Hunden wurde nicht versucht eine glomeruläre Erkrankung histologisch nachzuweisen, aber auf Grund der meist starken Proteinurie (UPC Median 10.56) ohne Hinweise auf postrenale Ursachen, wurde auf eine glomeruläre Proteinurie geschlossen. Insgesamt waren 40% Berner Sennenhunde und die restlichen 60% repräsentieren Hunde von 12 anderen Rassen und 3 Mischlingshunde. Die Dominanz der Berner Sennenhunde mit Proteinurie an der Klinik gegenüber anderen Hunderassen, wurde auch schon 1991 in der Arbeit von Preiss beschrieben und ist vermutlich repräsentativ dafür, dass Berner Sennenhunde häufiger an glomerulärer Proteinurie erkranken. Es kann nicht völlig ausgeschlossen werden, dass während der Zeitdauer der Datenerfassung mehr Berner Sennenhunde als üblich mit Nierenproblemen an der Klinik vorgestellt wurden, da bekannt war, dass dort dieses Problem spezifisch untersucht wurde.

4.3.2 Familiäre Glomerulopathie

Verglich man die Berner Sennenhunde mit einem UPC >1 im Feld mit denen an der Klinik, fiel auf, dass diejenigen im Feld mit einem Median von 1.62 einen bedeutend tieferen UPC Wert aufwiesen als die an der Klinik mit einem Median von 10.56. Diese Feststellung widerspiegelt auch die Beobachtung, dass die Berner Sennenhunde im Feld, im Gegensatz zu denen an der Klinik, zum Zeitpunkt der Probeentnahme noch keine klinischen Symptome einer Proteinurie zeigten. Weiter fiel auf, dass 5 der 11 Berner Sennenhunde mit einem UPC > 0.3 im Feld älter waren als die Berner Sennenhunde, bei denen eine familiäre Glomerulonephritis vermutet wurde (2 bis 7 Jahre; Reusch et al., 1994). Familiäre Erkrankungen treten oft bei jungen Tieren auf (DiBartola, 2005_b) und da die in der vorliegenden Studie untersuchten Hunde mit einem UPC > 0.3 oft älter sind (Median 7 Jahre) kann spekuliert werden, dass ihre Proteinurie nicht auf Grund einer familiären Erkrankung entstand. Andererseits könnte aber die Erkrankung bei den an der Klinik vorgestellten Berner Sennenhunden mit Proteinurie familiären Ursprungs gewesen sein, weil 9 von 12 Hunden ein Alter im Bereich von 2 bis 7 Jahren aufwiesen. Tatsächlich konnten bei 8 dieser 9 Berner Sennenhunde, keine Ursachen für die Proteinurie, wie antinukleäre Antikörper oder eine Infektion mit Leishmanien, Ehrlichien oder Dirofilarien, nachgewiesen werden (Grauer und DiBartola, 2000). Nur bei einem Berner Sennenhund wurde ein Leiomyom in den Nieren diagnostiziert, welches das Auftreten der Proteinurie erklären könnte (Mills et al., 1977).

Von den 18 Hunden anderer Rasse, die an der Klinik mit Proteinurie erfasst wurden, wurde bei 2 eine Leishmaniose als Ursache einer Glomerulopathie diagnostiziert. Bei den anderen 16 Hunden konnte keine Ursache für die Proteinurie gefunden werden. Es könnte sich bei diesen Hunden also um eine familiär bedingte Form der Glomerulopathie gehandelt haben. Tatsächlich gehörten 6 dieser Hunde einer Rasse an, bei der eine genetische Komponente für das Auftreten der Glomerulopathie vermutet oder sogar schon nachgewiesen wurde. Es handelte sich dabei um drei

Dobermann Pinscher, einen Bullterrier, einen Cocker Spaniel und einen Soft-Coated Wheaten Terrier (Chew et al., 1983; Picut und Lewis, 1987; Hood et al., 1990; Lees et al., 1997; Littman et al., 2000).

4.3.3 Rascher Verlauf der Erkrankung

Wenn wir davon ausgehen, dass auch unter den anderen an der Klinik mit Proteinurie erfassten Hunden solche mit familiär bedingter Glomerulopathie sein könnten, beeindruckt die starke Dominanz der Berner Sennenhunde mit 40% noch viel mehr. Von Interesse ist deshalb die Frage, warum in einer klinisch gesunden Berner Sennenhunde Population nicht mehr Berner Sennenhunde mit Proteinurie identifiziert werden konnten. Eine mögliche Erklärung dafür wäre, dass die Erkrankung so schnell fortschritt, dass die Hunde, sobald ihre Nieren nicht mehr die volle Funktion aufbrachten, gleich schwer krank wurden und rasch starben oder euthanasiert werden mussten. Eigene Erfahrungen aus der Klinik zeigten, dass die Berner Sennenhunde, die zum ersten Mal mit klinischen Symptomen einer Glomerulopathie beim Tierarzt vorgestellt wurden, oft nur noch eine Lebenserwartung von höchstens ein paar Wochen hatten.

4.3.4 Prävalenz von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* bei Hunden an der Klinik

Berner Sennenhunde an der Klinik mit Proteinurie wiesen zwar etwas weniger häufig Antikörper gegen *B. burgdorferi* auf (42%) als Berner Sennenhunde im Feld (59%). Dieser Unterschied war aber nicht signifikant. Bei den anderen Hunden an der Klinik mit Proteinurie war der prozentuale Anteil an Hunden mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi* fast gleich wie bei den Kontrollhunden im Feld (19% respektive 18%). Aus diesen Daten ist kein fördernder Einfluss von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* auf das Vorkommen von Proteinurie ersichtlich. Im Gegenteil, die Abnahme der Häufigkeit von Antikörpern gegen *B. burgdorferi* ist auffällig, wenn man bedenkt, dass im Feld mit zunehmendem Alter der Anteil der Berner Sennenhunde mit Antikörpern gegen *B. burgdorferi* zunahm. Dies widerspricht der Vermutung, dass Antikörper gegen *B. burgdorferi* zu Glomerulopathien führt.

4.4 Genetische Komponente der Glomerulonephritis der Berner Sennenhunde

Die Glomerulopathie, die vermehrt bei jüngeren Berner Sennenhunden auftritt, wird als familiär bedingte Erkrankung bezeichnet (Minkus et al., 1994). Bereits in früheren Studien (Preiss 1991, Reusch et al. 1994) wurde versucht einen genetischen Vererbungsmodus nachzuweisen. Dies gelang zwar bisher nicht, aber ein autosomal rezessiver Erbgang wurde vermutet (Reusch et al., 1994). Auch in der vorliegenden Studie gelang es nicht, einen Vererbungsmodus von Proteinurie bei Berner Sennenhunden nachzuweisen. Dem Ergebnis der Analyse mit dem Computerprogramm PAP entsprechend, handelte es sich bei der Proteinurie der Berner Sennenhunde um eine umweltbedingte Form. Es ist aber fraglich, ob dieses Resultat der Wirklichkeit entspricht. In der Publikation von Nash (1989) wurde die familiär bedingte Glomerulopathie als eine Erkrankung vieler naher verwandter Tiere definiert, was auf die Berner Sennenhunde mit Proteinurie zutraf. Zudem waren in dieser Studie nicht nur die Hunde mit Proteinurie, sondern alle 332 Berner

Sennenhunde, die in die Analyse miteinbezogen wurden, nahe verwandt. Sie konnten alle einer einzigen Familie zugeordnet werden. Schon früher konnte in Untersuchungen zu molekulargenetischen Analysemethoden beim Berner Sennenhund festgestellt werden, dass eine eingeschränkte genetische Variabilität besteht und einzelne Rüden in vielen Familien vorkommen (Werner, 1994). Das erschwert die Computeranalyse. Zusätzlich stellte sich die Frage, wie der Phänotyp „positiv für eine möglicherweise familiär bedingte Proteinurie“ definiert werden sollte. Sollten nur Hunde, die jung waren eingeschlossen werden, da bei ihnen eine familiäre Erkrankung wahrscheinlicher war oder sollten auch ältere Hunde mit Proteinurie unbekannter Ursache bei denen nicht ausgeschlossen werden konnte, dass es sich bei ihnen auch um die familiär bedingte Form der Erkrankung handelte, berücksichtigt werden? Deshalb wurde entschieden, für diese Analyse alle Berner Sennenhunde mit Proteinurie, egal welcher Altersklasse, als Phänotyp „positiv“ anzugeben, was möglicherweise nicht ganz korrekt war. Auch wenn bis heute der Nachweis des Vererbungsmodus der Glomerulopathie bei Berner Sennenhunden nicht gelungen ist, wird weiter davon ausgegangen, dass es sich um eine vererbte Erkrankung handelt.

4.5 Gesundheitszustand der Hunde im Feld

Um sicher zu gehen, dass die im Feld untersuchten Hunde nicht an Erkrankungen litten, die einen Einfluss auf die Nierenfunktion hatten, wurde bei jedem Hund eine vollständige Hämatologie und ein Blutchemieprofil durchgeführt. Dabei wurden fast bei jedem Hund einzelne Blutwerte gefunden, die vom Referenzbereich abwichen. Auffällig viele Hunde zeigten eine Hyperbilirubinämie, eine Hypoglykämie, eine Hypoalbuminämie, eine Hyperkaliämie, eine Hypokalzämie und eine Hyperphosphatämie. 17 Hunde zeigten eine Azotämie. Von diesen 17 Hunden waren 16 Berner Sennenhunde und einer ein Kontrollhund. Bei 7 dieser 17 Hunde handelte es sich wahrscheinlich um eine prärenal bedingte Azotämie, weil das spezifische Gewicht des Urins grösser als 1.030 war. Von den restlichen 10 Hunden hatten alle eine leichtgradige Azotämie (Harnstoff 5.8-13.1 mmol/l, Median 7.7 mmol/l; Kreatinin 99-168 µmol/l, Median 132 µmol/l). Da zum Zeitpunkt der Probeentnahmen keiner der Hunde klinische Symptome zeigte und die Werte nur geringgradig vom Referenzbereich abwichen, wurden diese Hunde in die Studie aufgenommen. Auch bei der Betrachtung der Blutbilder der restlichen Hunde, konnten die einzelnen Blutwerte, die vom Referenzbereich abwichen, bei keinem der Hunde mit einer klinisch feststellbaren Erkrankung in Zusammenhang gebracht werden. Deshalb wurden diese Abweichungen, neben möglichen einzelnen Messartefakten, als natürliche Schwankungen interpretiert und die untersuchten Hunde in die Studie aufgenommen.

Mit dieser Studie konnte gezeigt werden, dass Berner Sennenhunde häufiger als andere Hunderassen Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen. Bei klinisch gesunden Hunden konnten aber keine Hinweise gefunden werden, die auf ein gehäuftes Vorkommen von glomerulären Erkrankungen hinwiesen, obwohl mehr Berner Sennenhunde an Glomerulonephritis erkranken als Hunde anderer Rassen. Für die Beantwortung der Fragen ob ein Zusammenhang der Antikörper gegen *B. burgdorferi* mit der Glomerulonephritis der Berner Sennenhunde besteht, sind weitere Datenerhebungen nötig. Interessant wäre zum Beispiel weiter zu verfolgen, ob die Berner Sennenhunde, die in dieser Studie Antikörper gegen *B. burgdorferi* aufwiesen, klinische Symptome einer Borreliose entwickeln und ob ihre Antikörper gegen *B. burgdorferi* während des Rests des Lebens erhalten bleiben. Ebenfalls interessant wäre zu beobachten, was aus den Hunden wird, die im Urin bereits gewisse Anzeichen eines Proteinverlustes aufwiesen, sei es im UPC, im Mikroalbuminurie-Test oder in der Elektrophorese. Es ist wichtig zu wissen, ob diese Hunde in Zukunft eine Glomerulonephritis entwickeln oder nicht, damit der Wert dieser Untersuchungen zur Früherkennung einer Glomerulopathie beurteilt werden kann. Die Frühdiagnose der Glomerulonephritis wäre ein wichtiger Schritt zur Bekämpfung dieser Erkrankung beim Berner Sennenhund.

6 Anhang

6.1 Fragebogen an die Hundebesitzer

Vorgeschichte:			
Verwenden Sie ein Zeckenschutzmittel:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, welches:	
Hat Ihr Hund oft Zecken:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja	
Wurde Ihr Hund gegen Lyme Borreliose geimpft:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja	
Litt Ihr Hund früher einmal an Infektionskrankheiten:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, welche:	
momentanes Befinden:			
Allgemeinbefinden:	<input type="radio"/> normal		
Leistungsfähigkeit:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> herabgesetzt	
Gewichtsverlust:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, wie viel:	
Haut:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> Knoten fühlbar	
Appetit:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> herabgesetzt	<input type="radio"/> vermehrt
Durst:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> vermehrt, wie viel:	
Erbrechen:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja	
Husten:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja	
Harnabsatz:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> herabgesetzt	<input type="radio"/> vermehrt
Kotabsatz:	<input type="radio"/> normal	<input type="radio"/> Durchfall	<input type="radio"/> Verstopfung
Lahmheit:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, wo:	
Fieber:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, wie hoch:	
Oedeme:	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, wo:	
Bekommt Ihr Hund zur Zeit Medikamente:			
	<input type="radio"/> nein	<input type="radio"/> ja, welche:	

6.2 Tabellen

Tabelle 1. Im Feld untersuchte Hunde

Rasse	Anzahl	Alter [Jahre]		Geschlecht				Fellfarbe
		Bereich	Median	w	wk	m	mk	
Berner Sennenhunde	160	1-11	4	94	21	35	10	dunkel
Landseer	28	1-12	5	16	2	8	2	hell
Neufundländer	12	3-8	6	9	1	2	0	dunkel
Flat-coated Retriever	8	1-7	1	4	0	3	1	dunkel
Golden Retriever	3	1-5	4	3	0	0	0	hell
Bernhardiner	2	2/5	3.5	1	1	0	0	hell
Belgischer Schäferhund	1	2	2	1	0	0	0	hell
Mastin de los Pirineos	1	11	11	0	0	1	0	hell
Tibetan Mastiff	1	5	5	0	0	1	0	hell
Mischling	6	2-8	6.5	0	1	1	4	5 hell, 1 dunkel
Kontrollhunde total	62	1-12	5	34	5	16	7	41 hell, 21 dunkel

w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert

Tabelle 2. An der Klinik untersuchte Berner Sennenhunde

	Anzahl	Alter [Jahre]		Geschlecht				Proteinurie (UPC >1)
		Bereich	Median	w	wk	m	mk	
Berner Sennenhunde total	88	1-12	6	22	25	29	12	12

w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert

Tabelle 3. An der Klinik untersuchte Hunde mit Proteinurie (UPC > 1)

Rasse	Anzahl	Alter [Jahre]		Geschlecht			
		Bereich	Median	w	wk	m	mk
Berner Sennenhund	12	3-10	5	1	6	3	2
Briard	1	10	10				1
Bullterrier	1	6	6			1	
Dalmatiner	1	7	7				1
Dobermann	3	4/5	5	1			2
Deutscher Schäferhund	1	3	3			1	
Gebirgsschweisshund	1	5	5	1			
Golden Retriever	2	9/10	9.5		1	1	
Malteser	1	3	3			1	
Softcoated Terrier	1	7	7		1		
Spaniel	1	6	6		1		
Yorkshire Terrier	2	10/18	14		2		
Mischling	3	2-8	5	1	2		
Total Hunde anderer Rasse	18	2-18	6	3	7	4	4
Total Hunde	30	2-18	5.5	4	13	7	6

w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert
UPC = Protein-Kreatinin Quotient im Urin

Tabelle 4. Vorgeschichte der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

		Berner Sennenhunde	Kontrollhunde
Zeckenvorkommen	Ja	58	13
	Nein	73	40
Zeckenschutz	Keiner	40	14
	ExSpot®	39	19
	Frontline®	28	15
	Eukalyptus	2	0
	Lavendel	1	0
	Martec®	2	0
	Knoblauch	2	1
	Zeckennodose	2	0
	Zeck-Weck®	1	0
	Exovap®	2	0
	Program®	1	0
	Teebaumöl	1	0
	Zedernholz-Spray	4	0
	Halsband	5	0
	Impfung	0	1
Frühere Erkrankungen	Keine	109	42
	Borreliose	6	3
	Enzephalitis	1	1
	Augeninfekt	1	0
	Nierenerkrankung	4	0
	Gebärmuttererkrankung	2	0
	Husten	1	0
	Harnwegsinfektion	0	1
	Blasenentzündung	1	0
	Giardien	1	0
	Zwingerhusten	0	4
	Abszess	2	0
Allgemeinzustand	Normal	132	52
Kondition	Normal	126	50
	Herabgesetzt	6	2
Gewichtsverlust	Nein	127	52
	Ja	4	0
Hautknoten vorhanden	Nein	117	49
	ja	13	3
Appetit	Normal	122	51
	Herabgesetzt	7	0
	vermehrt	1	1
Durst	Normal	124	51
	Herabgesetzt	5	1
	vermehrt	1	0
Erbrechen	Nein	129	51
	Ja	1	1
Husten	Nein	130	52
	Ja	0	0
Harnabsatz	Normal	126	52
	Herabgesetzt	1	0
	Vermehrt	1	0
Kotabsatz	Normal	127	52
	Durchfall	3	0
Lahmheit	Nein	82	45
	Ja	8	7
Fieber	nein	132	52
	Ja	0	0
Oedeme	Nein	90	52
	Ja	0	0

Tabelle 5. Hämatologie- und Blutchemieresultate der im Feld untersuchten Berner Sennenhunde und Kontrollhunde

Werte	Referenz- bereich	Berner Sennenhunde		Kontrollhunde	
		Bereich	Median	Bereich	Median
Hämatokrit [%]	42-55	37-70	50	35-57	46
Leukozyten [$10^3/\text{ul}$]	4.7-11.3	3.2-22.8	9.3	3.5-15.8	7.7
Neutrophile Granulozyten [K/ul]	3.6-12.5	2.29-18.40	5.60	2.15-11.3	4.19
Eosinophile Granulozyten [K/ul]	0.1-1.8	0.007-2.660	0.554	0.002-1.81	0.363
Basophile Granulozyten [K/ul]	0.0-1.0	0.006-0.693	0.139	0.0-0.403	0.088
Monozyten [K/ul]	0.1-1.7	0.039-2.400	0.717	0.034-1.34	0.493
Lymphozyten [K/ul]	0.7-6.0	0.51-8.60	1.98	0.47-4.62	1.51
Bilirubin gesamt [$\mu\text{mol/l}$]	2.5-7.6	2.2-19.4	4.15	2.0-8.4	3.6
Glukose im Serum [mmol/l]	4.1-5.9	2.6-5.9	4.4	2.7-5.9	4.5
Harnstoff [mmol/l]	3.8-9.4	3.1-13.1	6.6	2.2-11.1	5
Kreatinin [$\mu\text{mol/l}$]	64-125	69-168	102	59-119	85
Protein (Biuret) [g/l]	56-71	43-74	64	50-70	60
Albumin [g/l]	29-37	21-38	30	24-35	31
Cholesterin [mmol/l]	3.5-8.6	3.5-11.8	6.8	4.3-10.8	6.6
Alkalische Phosphatase [U/l]	20-98	8-343	64	14-184	51.5
Amylase [U/l]	377-1244	333-1710	838	373-1570	567
ASAT [U/l]	20-44	14-60	30	14-58	25
ALAT [U/l]	20-93	25-234	47	5-98	32
Natrium [mmol/l]	152-159	148-159	154	150-161	154
Kalium [mmol/l]	4.3-5.3	4.7-7.5	5.4	4.0-6.3	5.1
Kalzium [mmol/l]	2.4-2.8	2.14-2.98	2.61	1.97-3.02	2.465
Phosphor [mmol/l]	1.0-1.6	0.96-3.03	1.43	0.84-3.28	1.38

Tabelle 6. Anzahl der Hunde im Feld, deren Hämatologie- und Serumchemieresultate im Referenzbereich oder darüber, respektive darunter, lagen.

Werte	Anzahl Berner Sennenhunde			Anzahl Kontrollhunde		
	Im Referenz-Bereich	zu tief	zu hoch	Im Referenz-Bereich	zu tief	zu hoch
Hämatokrit	114	10	22	34	22	1
Leukozyten	118	1	31	21	32	4
Neutrophile Granulozyten	138	8	4	53	4	0
Eosinophile Granulozyten	138	10	2	56	1	0
Basophile Granulozyten	150	0	0	56	1	0
Monozyten	134	4	1	54	2	1
Lymphozyten	147	1	1	57	0	0
Bilirubin gesamt	128	3	10	15	10	1
Glukose im Serum	102	58	0	62	0	0
Harnstoff	150	3	7	51	10	1
Kreatinin	150	0	10	60	2	0
Protein (Biuret)	144	10	6	57	5	0
Albumin	106	53	1	47	15	0
Cholesterin	146	0	14	54	0	8
Alkalische Phosphatase	122	1	37	49	1	12
Amylase	143	1	16	56	3	3
ASAT	148	4	8	50	10	2
ALAT	149	0	11	54	7	1
Natrium	137	22	1	58	3	1
Kalium	76	0	79	43	2	12
Kalzium	125	20	15	36	23	3
Phosphor	124	3	33	53	2	7

Tabelle 7. Resultate der Borrelienserologie (Westernblot und ELISA) der im Feld und an der Klinik untersuchten Hunde

		Westernblot		Total
		Positiv	Negativ	
ELISA	Positiv	142	50	192
	Negativ	8	96	104
	Fraglich	4	13	17
Total		154	159	313

Tabelle 8. Borrelienserologie der im Feld untersuchten Hunde

Borreliense- rologie	Berner Sennenhunde (160)						Kontrollhunde (61)							
	Abs.	%	Geschlecht				Abs.	%	Geschlecht				Fellfarbe	
			w	wk	m	mk			w	wk	m	mk	h	d
positiv	94	59	51	10	27	6	11	18	7	0	3	1	4	7
negativ	66	41	43	11	8	4	50	82	27	5	13	5	36	14
Total	160	100	94	21	35	10	61	100	34	5	16	6	40	21

Abs. = Absolut, w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert, h = hell, d = dunkel

Tabelle 9. Borrelienserologie der im Feld untersuchten Hunde und Häufigkeit von Zeckenbefall

Borreliense- rologie	Berner Sennenhunde (131)		Kontrollhunde (53)	
	Oft von Zecken befallen		Oft von Zecken befallen	
	Ja	Nein	Ja	Nein
positiv	42	40	4	6
negativ	16	33	9	34
Total	58	73	13	40

Tabelle 10. Borrelienserologie der an der Klinik untersuchten Berner Sennenhunde und Hunde anderer Rassen

Borreliense- rologie	Berner Sennenhunde (88)							Hunde mit Proteinurie (18)					
	absolut		% der u	Geschlecht				absolut	% der u	Geschlecht			
	Proteinurie			w	wk	m	mk			w	wk	m	mk
	Nein	Ja											
positiv	33	5	50	7	14	11	6	3	19	1	2	0	0
negativ	31	7	50	11	9	13	5	13	81	2	5	3	3
keine Serologie	12			4	2	5	1	2				1	1
total	76	12	100	18	23	24	11	18	100	3	7	4	4

UPC = Protein-Kreatinin-Quotient im Urin, w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert, % der u = % der mittels Borrelienserologie untersuchten Hunde

Tabelle 11. Berner Sennenhunde im Feld und Kontrollhunde mit einem UPC > 0.3

Hund	UPC	Alter	Geschlecht	Azotämie	Serumalbumin	MAT
BSH ₁	0.32	11	wk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₂	0.35	8	mk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₃	0.35	6	mk	Keine	Normbereich	Mittel positiv
BSH ₄	0.41	1	mk	Keine	Normbereich	Negativ
BSH ₅	0.42	1	mk	Keine	Normbereich	Negativ
BSH ₆	0.46	1	mk	Minime	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₇	0.49	9	wk	Minime	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₈	0.65	11	mk	Keine	Normbereich	Stark positiv
BSH ₉	1.45	7	mk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₁₀	1.62	9	mk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
BSH ₁₁	1.89	6	mk	Minime	Leicht zu tief	Stark positiv
KH ₁	0.31	7	mk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
KH ₂	0.39	8	mk	Keine	Leicht zu tief	Stark positiv
KH ₃	0.48	7	mk	keine	Leicht zu tief	fehlt

BSH = Berner Sennenhund; KH = Kontrollhund; mk = männlich kastriert; wk = weiblich kastriert ; MAT = Mikroalbuminurie-Test

Tabelle 12. Mikroalbuminurie-Test Resultate in Abhängigkeit vom Protein-Kreatinin Quotient im Urin (UPC) bei im Feld untersuchten Berner Sennenhunden und Kontrollhunden

Mikroalbuminurie-Test	Berner Sennenhunde (150)					Kontrollhunde (55)				
	total	UPC > 0.3 (11)		UPC < 0.3 (139)		total	UPC > 0.3 (2)		UPC < 0.3 (53)	
		Abs.	%	Abs.	%		Abs.	%	Abs.	%
negativ	118	1	9	117	84	45	0	0	45	85
leicht positiv	16	0	0	16	12	5	0	0	5	9
mittelstark positiv	4	1	9	3	2	1	0	0	1	2
stark positiv	12	9	82	3	2	4	2	100	2	4
Positiv total	32	10	91	22	16	10	2	100	8	15

Tabelle 13. Urin Proteinelektrophorese der im Feld untersuchten BSH und Kontrollhunde

Proteinelektrophorese	BSH n=66)	Kontrollhunde n=22
Normales Proteinmuster (keine Bande oder nur schwache Bande im Bereich von 66 kDa (Albumin))	62	22
Glomeruläres Proteinmuster BSH, männlich, 9 Jahre, UPC 1.62, Mikroalbuminurie-Test pos	1	0
<i>Ausschliesslich deutliche Bande bei 66 kDa (Albumin)</i> BSH, weiblich, 4 Jahre, UPC 0.08, Mikroalbuminurie-Test neg BSH, weiblich, 9 Jahre, UPC 0.49, Mikroalbuminurie-Test pos	2	
Gemischtes glomeruläres und tubuläres Proteinmuster BSH, männlich, 7 Jahre, UPC 1.45, Mikroalbuminurie-Test pos	1	0

BSH = Berner Sennenhund, pos = positiv, neg = negativ

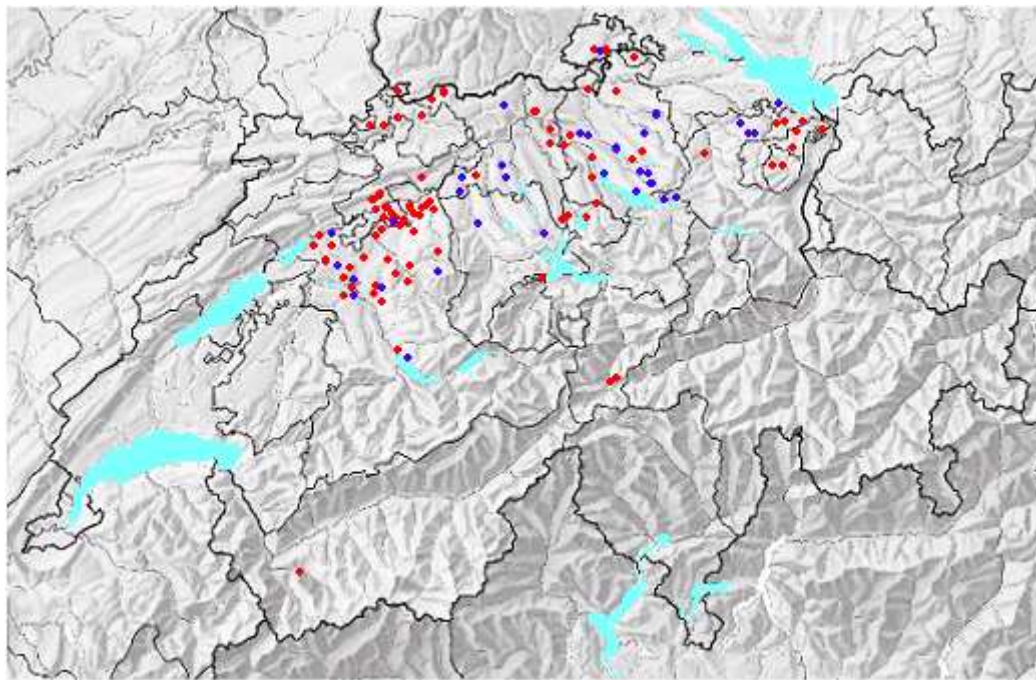
Tabelle 14. An der Klinik erfasste Hunde mit Proteinurie

Rasse	Anzahl	Alter [Jahre]		Geschlecht				Borreliose			UPC	
		Bereich	Median	w	wk	m	mk	pos	neg	nu	Bereich	Median
BSH	12	3-10	5	0	7	0	5	5	7	0	1.08-21.43	10.56
Andere Hunde	18	2-18	6	0	10	0	8	3	13	2	2.71-12.86	6.165

BSH = Berner Sennenhund, w = weiblich, wk = weiblich kastriert, m = männlich, mk = männlich kastriert, pos = positiv, neg = negativ, nu = nicht untersucht, UPC = Protein-Kreatinin Quotient im Urin

6.3 Abbildungen

Abb. 1. Geographische Verteilung der im Feld untersuchten Hunde



rot = Berner Sennenhunde, blau = Kontrollhunde

- Aeschlimann A., Chamot E., Gigon F., Jeanneret J.P., Kessler D., Walther Ch. (1986): *B. burgdorferi* in Switzerland. Zentralblatt für Bakteriologie A 263:450-458.
- Ai C., Wen Y. (1988): Clinical manifestations and epidemiological characteristics of Lyme disease in Hailin county, Heilongjiang Province, China. Annals of the New York Academy of Sciences 539:302-313.
- Alitalo A., Meri T., Ramo L., Jokiranta T.S., Heikkilä T., Seppälä I.J., Oksi J., Viljanen M., Meri S. (2001): Complement evasion by *Borrelia burgdorferi*: serum-resistant strains promote C3b inactivation. Infection and Immunity 69(9):3685-3691.
- Anderson J.F., Barthold S.W., Magnarelli L.A. (1990): Infectious but non-pathogenic isolate of *Borrelia burgdorferi*. Journal of Clinical Microbiology 28:2693-2699.
- Appel M.J.G., Allan S., Jacobson R.H., Lauderdale T.L., Chang Y.F., Shin S.J., Thomford J.W., Todhunter R.J., Summers B.A. (1993): Experimental Lyme disease in dogs produces arthritis and persistent infection. Journal of Infectious Diseases 167:651-654.
- Appel M.J.G., Jacobson R.H. (1995): CVT Update: Canine Lyme disease. In: Current Veterinary therapy XII (J.D. Bonagura). W.B. Saunders Company, Philadelphia S. 303-309.
- Azuma Y., Kawamura K., Isogai H., Isogai E. (1993): Neurologic abnormalities in two dogs with suspected Lyme disease. Microbiological Immunology 37:325-329.
- Azuma Y., Isogai E., Isogai H., Kawamura K. (1994): Canine Lyme disease: clinical and serological evaluations in 21 dogs in Japan. The Veterinary Record 134:369-372.
- Baneth G., Breitschwerdt E.B., Hegarty B.C., Pappalardo B., Ryan J. (1998): A survey of tick-borne bacteria and protozoa in naturally exposed dogs from Israel. Veterinary Parasitology 74:133-142.
- Barbour A.G. (1984): Isolation and cultivation of Lyme disease spirochetes. Yale Journal of Biology and Medicine 57:521-525.
- Barthold S. W., Levy S. A., Fikrig E., Bockenstedt L.K., Smith A.L. (1995): Serologic responses of dogs naturally exposed to or vaccinated against *Borrelia burgdorferi* infection. Journal of the American Veterinary Medical Association 207:1435-1440.
- Bauerfeind R., Kreis U., Weiss R., Wieler L.H., Baljar G. (1998): Detection of *Borrelia burgdorferi* in urine specimens from dogs by a nested polymerase chain reaction. Zentralblatt für Bakteriologie 287:347-361.
- Baumann D., Pusterla N., Péter O., Grimm F., Fournier P.E., Schar G., Bossart W., Lutz H., Weber R. (2003): Fieber nach Zeckenstich: Klinik und Diagnostik von akuten Zeckenstich-assoziierten Infektionskrankheiten in der Nordostschweiz. Deutsches Medizinisches Wochenschriften 128:1042-1047.
- Baumgarten B.U., Rollinghoff M., Bogdan C. (1999) Prevalence of *Borrelia burgdorferi* and granulocytic and monocytic ehrlichiae in *Ixodes ricinus* ticks from southern Germany. Journal of Clinical Microbiology 37:3448-3451.
- Bergmann A.R., Schmidt B.L., Derler A.-M., Aberer E. (2002): Importance of sample preparation for molecular diagnosis of Lyme borreliosis from urine. Journal of Clinical Microbiology 40:4581-4584.
- Bernasconi M., Valsangiacomo C., Balmelli T., Péter O., Piffaretti J. (1997): Tick zoonoses in the southern part of Switzerland (Canton Ticino): occurrence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato and *Rickettsia* sp. European Journal of Epidemiology 13:209-215.
- Bienz H. A. (1985): Zur Ellbogendysplasie bei den Sennenhunden. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.

- Bloedow A.G.* (1981): Familial renal disease in Samoyed dogs. *Veterinary Record* 108(8):167-168.
- Blum J.R., Cork L.C., Morris J.M., Olson J.L., Winkelstein J.A.* (1985): The clinical manifestation of a genetically determined deficiency of the third component of complement in the dog. *Clinical Immunology and Immunopathology* 34: 304-315.
- Bonfanti U., Zini E., Minetti E., Zatelli A.* (2004): Free light-chain proteinuria and normal renal histopathology and function in 11 dogs exposed to *Leishmania infantum*, *Ehrlichia canis*, and *Babesia canis*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18:618-624.
- Bosler E.M., Cohen D.P., Schulze T.L., Olsen C., Bernard W., Lissman B.* (1988): Host responses to *Borrelia burgdorferi* in dogs and horses. *Annals of the New York Academy of Sciences* 538:221-234.
- Brown S.A., Walton C.L., Crawford P., Bakris G.L.* (1993): Long-term effects of antihypertensive regimens on renal hemodynamics and proteinuria. *Kidney International* 43:1210-1218.
- Burgess E.C.* (1986): Natural exposure of Wisconsin dogs to the Lyme disease spirochete (*Borrelia burgdorferi*). *Laboratory Animal Science* 36(3):288-290.
- Burkholder W., Lees G., LeBlanc A., Slater M., Bauer J., Kashtan C., McCracken B., Hannah S.* (2004): Diet modulates proteinuria in heterozygous female dogs with X-linked hereditary nephropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18:165-175.
- Burkot T.R., Piesman J., Wirtz R.A.* (1994): Quantitation of the *Borrelia burgdorferi* outer surface protein A in *Ixodes scapularis*: fluctuations during the tick life cycle, doubling times, and loss while feeding. *Journal of Infectious Diseases* 170:883-889.
- Carpenter J.L., Andelman N.C., Moore F.M., King N.W. Jr.* (1988): Idiopathic cutaneous and renal glomerular vasculopathy of greyhounds. *Veterinary Pathology* 25:401-407.
- Cerri D., Farina R., Andreani E., Nuvoloni R., Pedrini A., Cardini G.* (1994): Experimental infection of dogs with *Borrelia burgdorferi*. *Research in Veterinary Sciences* 57:256-258.
- Chan D.W., Perlstein M.T.* (1987): Immunoassay: A practical guide. Academic Press, Inc., San Diego, 53-67.
- Chang Y., Appel M., Jacobson R., Summers B.* (1995): Recombinant OspA protects dogs against infection and disease caused by *Borrelia burgdorferi*. *Infection and Immunity* 63:3543-3549.
- Chew D.J., DiBartola S.P., Boyce J.T., Hayes H.M. Jr., Brace J.J.* (1983): Juvenile renal disease in Doberman pinscher dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 182(5):481-485.
- Chew D.J. und DiBartola S.P.* (1986): Manual of small animal nephrology and urology. Churchill Livingstone, London.
- Ciceroni L., Bartoloni A., Ciarrhocchi S., Pinto A., Guglielmetti P., Valdez Vasquez C., Gamboa Barahona H., Roselli M., Paradisi F.* (1997): Serologic survey for antibodies to *Borrelia burgdorferi* in sheep, goats and dogs in Cordillera Province, Bolivia. *Zentralblatt für Veterinärmedizin* 44(3):133-137.
- Cohen N.D., Carter C.N., Thomas M.A., Angulo A.B., Eugster A.K.* (1988): Clinical and epizootiologic characteristics of dogs seropositive for *Borrelia burgdorferi* in Texas: 110 cases (1988). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 197(7):893-898.
- Cook A.K. und Cowgill L.D.* (1996): Clinical and pathological features of protein-losing glomerular disease in the dog: a review of 137 cases (1985-1992). *Journal of the American Animal Hospital Association* 32:313-322.
- Cook S.M., Dean, D.F., Golden, D.L., Wilkinson, J.E., Means, T.L.* (1993): Renal failure attributable to atrophic glomerulopathy in four related Rottweilers. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 202:107-109.

- Cork L.C., Morris J.M., Olson J.L., Krakowka S., Swift A.J., Winkelstein J.A. (1991): Membranoproliferative glomerulonephritis in dogs with a genetically determined deficiency of the third component of complement. *Clinical Immunology and Immunopathology* 60(3):455-470.
- Crippa M., Rais O., Gern L. (2002): Research Paper: Investigations on the mode and dynamics of transmission and infectivity of *Borrelia burgdorferi* sensu stricto and *Borrelia afzelii* in *Ixodes ricinus* ticks. *Vector Borne and Zoonotic Diseases* 2:3-9.
- Dambach D.M., Smith C.A., Lewis R.M., Van Winkle T.J. (1997): Morphologic, immunohistochemical, and ultrastructural characterization of a distinctive renal lesion in dogs putatively associated with *Borrelia burgdorferi* infection: 49 cases (1987-1992). *Veterinary Pathology* 34:85-96.
- Dattwyler R.J., Luft B.J., Kunkel M.J., Finkel M.F., Wormser G.P., Rush T.J., Grunwaldt E., Agger W.A., Franklin M., Oswald D., Cockey L., Maladorno D. (1997): Ceftriaxone compared with doxycycline for the treatment of acute disseminated Lyme disease. *New England Journal of Medicine* 337:289-363.
- Davoust B., Boni M. (1998) : Borréliose de Lyme chez le chien: enquête séroépidémiologique dans le Sud-Est. *Médecine et Maladies Infectieuses* 28:408-409.
- Delgado S., Cármenes P. (1995): Seroepidemiological survey for *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease) in dogs from northwestern of Spain. *European Journal of Epidemiology* 11(3):321-324.
- DeSilva A.M., Telford S.R., Brunet L.R., Barthold S.W., Fikrig E. (1996): *Borrelia burgdorferi* OspA is an arthropod-specific transmission-blocking Lyme disease vaccine. *Journal of Experimental Medicine* 183:271-275.
- DiBartola S. P. (2005_a): Renal disease: Clinical approach and laboratory evaluation In: Textbook of Veterinary Internal Medicine Sixth Edition (S. J. Ettinger, and E. C. Feldman), W.B. Saunders, Philadelphia S. 1716-1730.
- DiBartola S. P. (2005_b): Familial renal disease in dogs and cats. In: Textbook of Veterinary Internal Medicine Sixth Edition (S. J. Ettinger, E. C. Feldman), W.B. Saunders, Philadelphia S. 1819-1824.
- Diterich I. (2003): Immunmodulation and new therapeutic strategies in Lyme borreliosis. Dissertation, Universität Konstanz.
- Doby J.M., Chevrier S., Couatarmanac'h A. (1988) : La spirochétose a tiques par *Borrelia Burgdorferi* chez les chiens dans l'ouest de la France. *Receuil de Médecine Vétérinaire* 164(5):367-374.
- Dressler F., Ackermann R., Steere A.C. (1994): Antibody responses to the three genomic groups of *Borrelia burgdorferi* in European Lyme borreliosis. *Journal of Infectious Diseases* 169:313-318.
- Egenvall A., Bonnett B., Gunnarsson A., Hedhammar A., Shoukri M., Bornstein S., Artursson K. (2000): Sero-prevalence of granulocytic Ehrlichia spp. and *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Swedish dogs 1991-94. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases* 32:19-25.
- Eichenberger S. (2002): Zeitschrift HUNDE 12/2002, Rubrik „Blässi-Post“, S. 68.
- Euzéby J.P. (1988): Mise en évidence d'anticorps anti- *Borrelia burgdorferi* chez le chien: sondage épidémiologique en région Midi-Pyrénées. *Revue de Médecine Vétérinaire* 139:589-593.
- Fahrer H., van der Linden S.M., Sauvain M.J., Gern L., Zhioua E., Aeschlimann A. (1991): The prevalence and incidence of clinical and asymptomatic Lyme borreliosis in a population at risk. *The Journal of Infectious Diseases* 163(2):305-310.
- Feder B.M., Joseph R.J., Moroff S.D., Schneider E.M., Bosler E.M. (1991): *Borrelia burgdorferi* antibodies in canine cerebrospinal fluid. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 5:137.

- Filipuzzi-Jenny E., Blot M., Schmid-Berger N., Meister-Turner J., Meyer J.* (1993): Genetic diversity among *Borrelia burgdorferi* isolates: more than three genospecies? *Research in Microbiology* 144:295-304.
- Finco D.R.* (1995): Urinary protein loss. In: *Canine and feline nephrology and urology* (C.A. Osborne, D.R. Finco). Williams & Wilkins, Baltimore S. 211-215.
- Gauthier D.T., Mansfield L.S.* (1999): Western immunoblot analysis for distinguishing vaccination and infection status with *Borrelia burgdorferi* (Lyme disease) in dogs. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 11:259-265.
- Gary A.T., Cohn L.A., Kerl M.E. und Jensen W.A.* (2004): The effects of exercise on urinary albumin excretion in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 18(1):52-55.
- Goldstein R.E., Sandler J.L. Bellohusen B.A., Erb H.N.* (2005): Microalbuminuria testing in asymptomatic Labrador Retrievers naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 19(3):464
- Goossens H.A.T., van den Bogaard A.E., Nohlmans M.K.E.* (2001): Dogs as sentinels for human Lyme borreliosis in the Netherlands. *Journal of Clinical Microbiology* 39:844-848.
- Grauer G.F., Thomas C.B., Eicker S.W.* (1985): Estimation of quantitative proteinuria in the dog, using the urine protein-to-creatinine ratio from a random, voided sample. *American Journal of Veterinary Research* 46:2116-2119.
- Grauer G.F., Burgess E.C., Cooley A.J., Hagee J.H.* (1988): Renal lesions associated with *Borrelia burgdorferi* infection in a dog. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 193:237-239.
- Grauer G. F., DiBartola S. P.* (2000): Glomerular disease. In: *Textbook of Veterinary Internal Medicine* 5th edition (S.J. Ettinger, E.C. Feldman), W.B. Saunders, Philadelphia S. 1662-1678.
- Grauer G.F., Oberhauser E.B., Basaraba R.J., Lappin M.R., Simpson D.F., Jensen W.A.* (2002): Development of microalbuminuria in dogs with heartworm disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 16:352.
- Grauer G.F.* (2003): Glomerulonephritis. In: *Small Animal Internal Medicine*, 3rd edition (Nelson R., Couto C.) Mosby, Missouri S. 600-607.
- Greene C.E., Appel M.J., Straubinger R.K.* (1998): Lyme borreliosis. In: *Infectious diseases of the dog and cat*, 2nd edition, (C.E. Greene) W.B. Saunders Company; Philadelphia S. 282-293.
- Greene R.T., Walker R.L., Nicholson W.L., Heidner H.W., Levine J.F., Burgess E.C., Wyand M., Breitschwerdt E.B., Berkhoff H.A.* (1988): Immunoblot analysis of the immunoglobulin G response to the Lyme disease agent (*Borrelia burgdorferi*) in experimentally and naturally exposed dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 26:648-653.
- Greene R.T.* (1990): An update on the serodiagnosis of canine Lyme borreliosis. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 4:167-171.
- Grodecki K.M., Gains M.J., Baumal R., Osmond D.H., Cotter B., Valli V.E., Jacobs R.M.* (1997): Treatment of X-linked hereditary nephritis in Samoyed dogs with angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitor. *Journal of Comparative Pathology* 117:209-225.
- Guerra M., Walker E., Kitron U.* (2000): Quantitative approach for the serodiagnosis of canine Lyme disease by the Immunoblot procedure. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2628-2632.
- Guerra M., Walker E., Kitron U.* (2001): Canine surveillance system for Lyme borreliosis in Wisconsin and Northern Illinois: Geographic distribution and risk factor analysis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 65(5):546-552.
- Gustafson J.M., Burgess E.C., Wachal M.D., Steinberg H.* (1993): Intrauterine transmission of *Borrelia burgdorferi* in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 54:882-890.

- Halouzka J., Postic D., Hubálek Z.* (1998): Isolation of the spirochaete *Borrelia afzelii* from the mosquito *Aedes vexans* in the Czech Republic. *Medical and Veterinary Entomology* 12:103-105.
- Hansen K., Dietz H.* (1989): Serosurvey for antibodies to *Borrelia burgdorferi* in Danish dogs. *Acta Pathologica, Microbiologica et Immunologica Scandinavica* 97:281-285.
- Hardin J.A., Steere A.C., Malawista S.E.* (1979): Immune complexes and the evolution of Lyme arthritis. Dissemination and localization of abnormal C1q binding activity. *New England Journal of Medicine* 301(25):1358-1363.
- Hauser U; Lehnert G; Lobentanzer R., Wilske B.* (1997): Interpretation criteria for standardized western blots for three European species of *Borrelia burgdorferi sensu lato*. *Journal of Clinical Microbiology* 35(6):1433-1444.
- Härter L., Straubinger R.K., Summers B.A., Erb H.N., Appel M.J.G.* (1999): Up-regulation of inducible nitric oxide synthase mRNA in dogs experimentally infected with *Borrelia burgdorferi*. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 67:271-284.
- Henneberg J.P., Neubert U.* (2002): *Borrelia burgdorferi* group: in-vitro antibiotic sensitivity. *Orvosi Hetilap* 143(21):1195-1198.
- Henegge U.R., Tannapfel A., Tying S.K., Erbel R., Arendt G., Ruzicka T.* (2003): Lyme borreliosis. *The Lancet Infectious Diseases* 3:489-500.
- Hilton E., Tramontano A., DeVoti J., Sood S.K.* (1997): Temporal study of immunoglobulin M seroreactivity to *Borrelia burgdorferi* in patients treated for Lyme borreliosis. *Journal of Clinical Microbiology* 35:774-776.
- Hood J.C., Robinson W.F., Huxtable C.R., Bradley J.S., Sutherland R.J., Thomas M.A.B.* (1990): Hereditary nephritis in the bull terrier: evidence for inheritance by an autosomal dominant gene. *Veterinary Record* 126:456-459.
- Hovius J.W., Hovius K. E., Oei A., Houwers D. J., van Dam A.P.* (2000): Antibodies against specific proteins of and immobilizing activity against three strains of *Borrelia burgdorferi sensu lato* can be found in symptomatic but not in infected asymptomatic dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2611-2621.
- Hubálek Z., Halouzka J.* (1997): Distribution of *Borrelia burgdorferi sensu lato* genomic groups in Europe, a review. *European Journal of Epidemiology* 13:951-957.
- Humair P., Peter O., Wallich R., Gern L.* (1995): Strain variation of Lyme disease spirochetes isolated from *Ixodes ricinus* and rodents collected in two endemic areas in Switzerland. *Journal of Medical Entomology* 32:433-438.
- Hüsler J., Zimmermann H.* (2001): Statistische Masszahlen: Formeln. In: Statistische Prinzipien für medizinische Projekte. 3. Auflage (J. Hüsler, H. Zimmermann) Verlag Hans Huber, Bern S. 41-46.
- Jacob F., Polzin D.J., Osborne C.A., Neaton J.D., Lekcharoensuk C., Allen T.A., Kirk C.A., Swanson L.L.* (2003): Association between initial systolic blood pressure and risk of developing a uremic crisis or of dying in dogs with chronic renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1; 222(3):322-329.
- Jacob F., Polzin D.J., Osborne C.A., Neaton J.D., Kirk C.A., Allen T.A., Swanson L.L.* (2005): Evaluation of the association between initial proteinuria and morbidity rate or death in dogs with naturally occurring chronic renal failure. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 1; 226(3):393-400.
- Jacobson R.H., Chang Y-F., Shin S.J.* (1996): Lyme disease: laboratory diagnosis of infected and vaccinated symptomatic dogs. *Seminars in Veterinary Medicine and Surgery* 11:172-182.
- Jaenson T.G.T.* (1991): The epidemiology of Lyme borreliosis. *Parasitology Today* 7:39-45.

Jelezarova E., Schlumberger M., Sadallah S., Späth P.J., Schifferli J.A., Lutz H.U. (2001). A C3 convertase assay for nephritic factor functional activity." *Journal of Immunological Methods* 251(1-2):45-52.

Jenal K. (2002): Studie zur Pathogenese und klinische Symptomatik der Borreliose beim Hund nach experimenteller Infektion. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.

Jensen W.A. Grauer G.F., Andrews J., Simpson D. (2001): Prevalence of microalbuminuria in dogs. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 15(3):300.

Johnson R. C., Kodner C. B., Jurkovich P. J., Collins J.J. (1990): Comparative in vitro and in vivo susceptibilities of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* to cefuroxime and other antimicrobial agents. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 34:2133-2136.

Jouda F., Crippa M., Perret J., Gern L. (2003): Distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in *Ixodes ricinus* ticks of canton Ticino (Switzerland). *European Journal of Epidemiology* 18:907-912.

Jouda F., Perret J., Gern L. (2004a): Density of questing *Ixodes ricinus* nymphs and adults infected by *Borrelia burgdorferi* sensu lato in Switzerland: spatio-temporal pattern at a regional scale. *Vector-Borne and Zoonotic Diseases* 4(1):23-32.

Jouda F., Perret J.-L., Gern L. (2004b): *Ixodes ricinus* density, and distribution and prevalence of *Borrelia burgdorferi* sensu lato infection along an altitude gradient. *Journal of Medical Entomology* 41(2):162-169.

Käsbohrer A., Schönberg A. (1990): Serologische Untersuchungen zum Vorkommen von *Borrelia burgdorferi* bei Haustieren in Berlin (West). *Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift* 103:374-378.

Kathmann I. (1998): Clinical and genetic investigations of idiopathic epilepsy in the Bernese mountain dog. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Bern.

Kaysen G.A. (1988): Albumin metabolism in nephrotic syndrome: The effect of dietary protein intake. *American Journal of Kidney Diseases* 12:461-480.

Kelly B.D., Finegan R.P., Cormican M., Callaghan J. (1999): Lyme disease and glomerulonephritis. *Irish Medical Journal* 92:372.

Kraus K.H., Johnson G.S. (1989): Von Willebrand's disease in dogs. In: *Current Veterinary Therapy X* (R.W. Kirk und J.D. Bonagura) W.B. Saunders Company, Philadelphia S.446-452.

Kumi-Diaka J., Harris O. (1995): Viability of *Borrelia burgdorferi* in stored semen. *British Veterinary Journal* 151:221-224.

Lásiková Š., Moravcová L., Pícha D., Žďárský E. (2003): Dynamics of the polymerase chain reaction (PCR) and its value in Lyme borreliosis. *Ceskoslovenska Neurologie Neurochirurgie* 66:44-49.

LeBricon T., Erlich D., Bengoufa D., Dussaucy M., Garnier J.P., Bousquet B. (1998): Sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis of urinary proteins: application to multiple myeloma. *Clinical Chemistry* 44(6):1191-1197.

Lees G.E., Wilson P.D., Helman R.G., Homco L.D., Frey M.S. (1997): Glomerular ultrastructural findings similar to hereditary nephritis in 4 English Cocker Spaniels. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 11:80-85.

Lees G.E., Jensen W.A., Simpson D.F., Kasthan C.E. (2002): Persistent albuminuria precedes onset of overt proteinuria in male dogs with X-linked hereditary nephropathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 16(3):353.

- Lees G.E., Brown S.A., Elliot J., Grauer G.F., Vaden S.L. (2005): Assessment and management of proteinuria in dogs and cats: 2004 ACVIM forum consensus statement (small animal). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 19:377-385.
- Leibstein M., Khan M., Bushmich S. (1998): Evidence for in utero transmission of *Borrelia burgdorferi* from naturally infected cows. *Journal of Spirochetal and Tick-borne Diseases* 5:54-62.
- Levy S.A., Duray P.H. (1988): Complete heart block in a dog seropositive for *Borrelia burgdorferi*. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 2:138-144.
- Levy S.A., Magnarelli L.A. (1992): Relationship between development of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs and the subsequent development of limb/joint borreliosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 200:344-347.
- Levy S.A., Barthold S.W., Dombach D.M., Wasmoen T.L. (1993): Canine Lyme borreliosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 15:833-846.
- Levy S., O'Connor T.P., Hanscom J.L., Shields P. (2002): Utility of an in-office C6 ELISA test kit for determination of infection status of dogs naturally exposed to *Borrelia burgdorferi*. *Veterinary therapeutics* 3(3):308-315.
- Liebisch A. (1996): Prophylaxe des Zecken- und Flohbefalls bei Hunden mit dem Hundehalsband KILTIX. *Der praktische Tierarzt* 6:493-496.
- Liebisch G., Liebisch A. (1999): Lyme-Borreliose beim Hund: Infektionsrisiko sowie Interpretation der Labordiagnose und Impfung. *Sonderdruck, Der Praktische Tierarzt* 80:5.
- Lindenmayer J., Weber M., Bryant J., Marquez E., Onderdonk A. (1990): Comparison of indirect immunofluorescent-antibody assay, enzyme-linked immunosorbent assay, and western immunoblot for the diagnosis of Lyme disease in dogs. *Journal of Clinical Microbiology* 28:92-96.
- Littman M.P., Giger U. (1990): Familial protein-losing enteropathy (PLE) and /or protein-losing nephropathy (PLN) in soft-coated Wheaten terriers. In: *Proceedings of the 8th ACVIM Forum*, Washington S. 1135.
- Littman M.P., Dambach D.M., Vaden S.L., Giger U. (2000): Familial protein-losing enteropathy and protein-losing nephropathy in soft-coated wheaten terriers: 222 cases (1983-1997). *Journal of Veterinary Internal Medicine* 14:68-80.
- Littman M.P. (2003): Canine borreliosis. *The Veterinary Clinics of North America. Small Animal Practice* 33:827-862.
- Lowry O.N., Rosebrough N.J., Farr L., Randall R.J. (1951): Protein measurement with the folin phenol reagent. *The Journal of Biological Chemistry* 193:265-278.
- Magnarelli L.A., Anderson J.F., Schreier A.B., Ficke C.M. (1987): Clinical and serologic studies of canine borreliosis. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 191:1089-1094.
- Magnarelli L.A., Anderson J.F., Schreier A.B. (1990): Persistence of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs of New York and Connecticut. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 196:1064-1068.
- Magnarelli L.A., Ijdo J.W., Padula S.J., Flavell R.A., Fikrik E. (2000) Serologic diagnosis of Lyme borreliosis by using enzyme-linked immunosorbent assays with recombinant antigens. *Journal of Clinical Microbiology* 38:1735-1739.
- Malawista S.E., Barthold S.W., Persing D.H. (1994): Fate of *Borrelia burgdorferi* DNA in tissues of infected mice after antibiotic treatment. *Journal of Infectious Diseases* 170:1312-1316.
- Malloy D., Nauman R., Paxton H. (1990): Detection of *Borrelia burgdorferi* using the polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 28:1089-1093.

Mandel N.S., Senker E.G., Bosler E.M., Schneider E.M. (1993): Intrathecal production of *Borrelia burgdorferi* specific antibodies in a dog with central nervous system Lyme borreliosis. *Compendium on Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 15:581-585.

Master E.J., Ellis B. (1995): Unilateral facial paralysis associated with borreliacidal activity against *Borrelia burgdorferi* sensu stricto C-1-11. *Journal of Spirochetal and Tick-Borne Diseases* 2:42-45.

Mather T.N., Fish D., Coughlin R.T. (1994): Competence of dogs as reservoirs for Lyme disease spirochetes (*Borrelia burgdorferi*). *Journal of the American Veterinary Medical Association* 205:186-188.

May C., Bennett D., Carter S.D. (1990): Lyme disease in the dog. *Veterinary Record* 126:293.

May C., Cartert S., Barnes A., Bell S., Bennett D. (1991): Serodiagnosis of Lyme disease in UK dogs. *Journal of Small Animal Practice* 32:170-174.

McCaw D., Knapp D., Hewett J. (1985): Effect of collection time and exercise restriction on the prediction of urine protein excretion, using urine protein/creatinine ratio in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 46:1665-1669.

McKenna P., Clement J., van Dijck D., Lauwerys M., Carey D., Van den Bogaard T., Bigaignon G. (1995): Canine Lyme disease in Belgium. *Veterinary Record* 136:244-247.

Merino F.J., Serrano J.L., Saz J.V., Nebreda T., Gegundez M., Beltran M. (2000): Epidemiological characteristics of dogs with Lyme borreliosis in the province of Soria (Spain). *European Journal of Epidemiology* 16(2):97-100.

Mills J.H.L., Moore J.T., Orr J.P. (1977): Canine renal leiomyoma- an unusual tumor. *Canadian Veterinary Journal* 18:76-78.

Minkus G., Breuer W., Wanke R., Reusch C., Leuterer G., Brem G., Hermanns W. (1994): Familial nephropathy in Bernese mountain dogs. *Veterinary Pathology* 31(4):421-428.

Miserez V., Gern L., Aeschlimann A. (1990): *Borrelia Burgdorferi* in ticks of the canton Tessin (Switzerland). *Parasitologia* 32:293-299.

Müller A. (1995): Messung der von Willebrand Antigen-Konzentration im Plasma von Berner Sennenhunden. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.

Mukolwe S.W., Kocan A.A., Wyckoff J.H. (1992): Serological survey for Lyme disease in domestic dogs and white-tailed deer from Oklahoma. *Annals of the New York Academy of Sciences* 653:172-177.

Müller-Peddinghaus R., Trautwein G. (1977): Analysis of dog urine by SDS-polyacrylamide gel electrophoresis. *Zentralblatt für Veterinärmedizin Reihe A* 24:731-755.

Murgia R., Piazzetta C., Cinco M. (2002): Cystic forms of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: induction, development, and the role of RpoS. *Wiener Klinische Wochenschrift* 114/13-14:574-579.

Nakao N., Yoshimura A., Morita H., Takada M., Kayano T., Ideura T. (2003): Combination treatment of angiotensin-II receptor blocker and angiotensin-converting-enzyme inhibitor in non-diabetic renal disease (COOPERATE): a randomised controlled trial. *The Lancet* 361:117-124.

Nash A.S. (1989): Familial renal disease in dogs. *Journal of Small Animal Practice*, 30:178-183.

NCCLS Performance Standards for Antimicrobial Disk and Dilution Susceptibility Tests for Bacteria Isolated from Animals; Approved Standard-Second Edition., NCCLS, 2002.

- Nocton J.J., Dressler F., Rutledge B.J., Rys P.N., Persing D.H., Steere A.C. (1994): Detection of *Borrelia burgdorferi* DNA by polymerase chain reaction in synovial fluid from patients with Lyme arthritis. *New England Journal of Medicine* 330:229-234.
- Olson P.E., Kallen A.J., Bjorneby J.M., Creek J.G. (2000): Canines as sentinels for Lyme disease in San Diego County, California. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 12(2):126-129.
- Osborne C.A., Stevens J.B., Lulich J.P., Ulrich L.K., Bird K.A., Koehler L.A., Swanson L.L. (1995) A clinician's analysis of urinalysis. In: *Canine and feline nephrology and urology* (C.A. Osborne, D.R. Finco). Williams & Wilkins, Baltimore S. 136-205.
- Overduin L.M., van den Bogaard A.E. (1997): [Lyme borreliosis in dogs.] Lyme borreliose bij de hond. *Tijdschr Diergeneeskd* 122:7-9.
- Padgett G.A., Madewell B.R., Keller E.T., Jodar L., Packard M. (1995): Inheritance of histiocytosis in Bernese mountain dogs. *Journal of Small Animal Practice* 36(3):93-98.
- Patrican L.A. (1997): Absence of Lyme disease spirochetes in larval progeny of naturally infected *Ixodes scapularis* (Acari Ixodidae) fed on dogs. *Journal of Medical Entomology* 34:52-55.
- Persing D.H., Rutledge B.J., Rys P.N., Podzorski D.S., Mitchell P.D., Reed K.D., Liu B., Fikrig E., Malawista S.E. (1994): Target Imbalance: Disparity of *Borrelia burgdorferi* genetic material in synovial fluid from Lyme arthritis patients. *Journal of Infectious Diseases* 169:668-672.
- Péter O., Bretz A-G., Bee D. (1995): Occurrence of different genospecies of *Borrelia burgdorferi* sensu lato in ixodid ticks of Valais, Switzerland. *European Journal of Epidemiology* 11:463-467.
- Pfister K., Bigler B., Neswadba J., Gern L., Aeschlimann A. (1989): *Borrelia burgdorferi* infections in dogs in Switzerland. *Zentralblatt für Bakteriologie, Suppl.* 18:26-31.
- Picut C.A., Lewis R.M. (1987): Juvenile renal disease in the Doberman pinscher: Ultrastructural changes of the glomerular basement membrane. *Journal of Comparative Pathology* 97:587-596.
- Piesman J., Happ C.M. (1997): Ability of the Lyme disease spirochete *Borrelia burgdorferi* to infect rodents and three species of human-biting ticks (blacklegged tick, American dog tick, lone star tick) (Acari: Ixodidae). *Journal of Medical Entomology* 34:451-456.
- Preac-Mursic V., Marget W., Busch U., Pleterski Rigler D., Hagl S. (1996): Kill kinetics of *Borrelia burgdorferi* and bacterial findings in relation to the treatment of Lyme borreliosis. Erratum in: *Infection* 24:9-16.
- Preiss H. (1991): Zur Glomerulonephritis beim Berner Sennenhund. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.
- Pressler B.M., Vaden S.L., Jensen W., Simpson D. (2001): Prevalence of microalbuminuria in dogs evaluated at a referral veterinary hospital. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 15:300.
- Pressler B.M., Proulx D.A., Williams L.E., Jensen W.A., Vaden S.L. (2003): Urine albumin concentration is increased in dogs with lymphoma or osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 17:404.
- Priem S., Burmester G., Kamradt T., Wolbart K., Ritting M.G., Krause A. (1998): Detection of *Borrelia burgdorferi* by polymerase chain reaction in synovial membrane, but not in synovial fluid from patients with persisting Lyme arthritis after antibiotic therapy. *Annals of the Rheumatoid Diseases* 57:118-121.
- Putala H., Soininen R., Kilpelainen P., Wartiovaara J., Tryggvason K. (2001): The murine nephrin gene is specifically expressed in kidney, brain and pancreas: inactivation of the gene leads to massive proteinuria and neonatal death. *Human Molecular Genetics* 10:1-8.
- Quinn P.J., Carter M-E, Markey B., Carter G.R. (Eds) (1994): *Clinical Veterinary Microbiology*, Mosby, London S. 123-124.

Radecki S., Donnelly R., Jensen W.A., Stinchcomb D.T. (2003): Urine albumin concentration is increased in dogs with lymphoma or osteosarcoma. *Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract)* 17:404.

Räber H. (2001): Der Berner Sennenhund (Dürnbächler). In: *Enzyklopädie der Rassehunde* (H. Räber), Franckh-Kosmos Verlag, Stuttgart S. 143.

Rand P.W., Smith R.P., Lacombe E.H. (1991): Canine seroprevalence and the distribution of *Ixodes dammini* in an area of emerging Lyme disease. *American Journal of Public Health* 81(10):1331-1334.

Rauch O. (2002_a): Zeitschrift HUNDE 15/2002, Rubrik „Blässi-Post“, S. 51.

Rauch O. (2002_b): Zeitschrift HUNDE 18/2002, Rubrik „Blässi-Post“, S. 50.

Reddi S.A., Ramamurthi R., Miller M., Dhuper S., Lasker N. (1991): Enalapril improves albuminuria by preventing glomerular loss of heparan sulfate in diabetic rats. *Biochemical Medicine and Metabolic Biology* 45(1):119-131.

Reiner B., Speck S., Gönczi E., Meli M., Ohlert S., Hauser B., Hoerauf A., Nett C., Unterer S., Tomsa K., Zimmer C., Keller M., Mauthe A., Lutz H., Wittenbrink M., Reusch C. (2002): Canine Lyme-arthritis: a clinical study, serological, PCR and culture evaluations. *Proceedings free Communications*. 7. FECAVA & 47. FK-DVG, Berlin S. 75-76.

Relford R., Lees G.E. (1996): Nephrotic syndrome in dogs: diagnosis and treatment. *Compendium Continuing Education for the Practicing Veterinarian* 18:279-293.

Remuzzi A. (1995): Mathematical description of transport of water and macromolecules through the glomerular capillary wall. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 4:343-348.

Reusch C., Hoerauf, A., Lechner, J., Kirsch, M., Leuterer, G., Minkus, G., Brem, G. (1994): A new familial glomerulonephropathy in Bernese mountain dogs. *Veterinary Record* 134:411-415.

Rodewald R., Karnovsky M.J. (1974): Porous substructure of the glomerular slit diaphragm in the rat and the mouse. *Journal of Cellular Biology* 60:423-433.

Rodgers S.J., Morton R.J., Baldwin C.A. (1989): A serological survey of *Ehrlichia canis*, *Ehrlichia equi*, *Rickettsia rickettsii*, and *Borrelia burgdorferi* in dogs in Oklahoma. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation* 1(2):154-159.

Rojo V.J. (1997): [Seroprevalence of the infections caused by *Borrelia burgdorferi* and *Rickettsia conorii* in humans and dogs in primary health care of San Andreas del Rabanedo (Leon, Spain)]. *Revista Española de Salud Pública* 71(2):173-180.

Rossi M., Morita H., Sormunen R., Airenne S., Kreivi M., Wang L., Fukai N., Olsen B.R., Tryggvason K., Soininen R. (2003): Heparan sulfate chains of perlecan are indispensable in the lens capsule but not in the kidney. *EMBO (European Molecular Biology Organization) Journal* 22:236-245.

Roush J.K., Manley P.A., Dueland R.T. (1989): Rheumatoid arthritis subsequent to *Borrelia burgdorferi* infection in two dogs. *Journal of the American Veterinary Medical Association* 195:951-953.

Saint Girons I., Gern L., Gray J.S., Guy E.C., Korenberg E., Nuttall P.A., Rijpkema S.G., Schonberg A., Stanek G., Postic D. (1998): Identification of *Borrelia burgdorferi* sensu lato species in Europe. *Zentralblatt für Bakteriologie* 287:190-195.

Salinas-Melendez J.A., Avalos-Ramirez R., Riojas-Valdez V.M., Martinez-Munoz A. (1999): Serological survey of canine borreliosis. *Revista Latinoamericana de Microbiología* 41(1):1-3.

Schillhorn T., Murphy A., Colmery B. (1993): False positive *Borrelia burgdorferi* antibody titres associated with periodontal disease in dogs. *Veterinary Record* 132:512.

Schwan T.G., Piesman J., Golde W.T., Dolan M.C., Rosa P.A. (1995): Induction of an outer surface protein on *Borrelia burgdorferi* during tick feeding. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 92:2909-2913.

Shih C.M., Pollack R.J., Telford S.R.3rd, Spielman A. (1993): Delayed dissemination of Lyme disease spirochetes from the site of deposition in the skin of mice. *Journal of Infectious Diseases* 166(4):827-831.

Shin S.J., Chang Y.F., Jacobson R.H., Shaw E., Lauderdale T.L., Appel M.J., Lein D.H. (1993): Cross-reactivity between *B. burgdorferi* and other spirochetes affects specificity of serotests for detection of antibodies to the Lyme disease agent in dogs. *Veterinary Microbiology* 36:161-174.

Sicklinger M., Wienecke R., Neubert U. (2003): In vitro susceptibility testing of four antibiotics against *Borrelia burgdorferi*: a comparison of results for the three genospecies *Borrelia afzelii*, *Borrelia garinii*, and *Borrelia burgdorferi sensu stricto*. *Journal of Clinical Microbiology* 41:1791-1793.

Sigal L.H. (1994): The polymerase chain reaction assay for *Borrelia burgdorferi* in the diagnosis of Lyme disease. *Annals of Internal Medicine* 120:520-521.

Sjöwall J., Carlsson A., Vaarala O., Bergstrom S., Ernerudh J., Forsberg P., Ekerfelt C. (2005) Innate immune responses in Lyme borreliosis: enhanced tumour necrosis factor-alpha and interleukin-12 in asymptomatic individuals in response to live spirochetes. *Clinical and Experimental Immunology* 141(1):89-98.

Speck S., Failing K., Reiner B., Wittenbrink M. (2002): Evaluation of different media and a BGM cell culture assay for isolation of *Borrelia burgdorferi sensu lato* from ticks and dogs. *Veterinary Microbiology* 89:291-302.

Steere A., Taylor E., McHugh G.L., Logigian E.L. (1993): The overdiagnosis of Lyme disease. *Journal of the American Medical Association* 269(14):1812-1816.

Stefancikova A., Skardova I., Pet'ko B., Janovska D., Cyprichova V. (1996): IgG antibodies to *Borrelia* in dogs in the area of Kosice. *Veterinary Medicine (Praha)* 41(3):83-86.

Stevenson B., Schwan T.G., Rosa P.A. (1995): Temperature-related differential expression of antigens in the Lyme disease spirochete, *Borrelia burgdorferi*. *Infection and Immunity* 63:4535-4539.

Straubinger R.K., Straubinger A.F., Harter L., Jacobson R.H., Chang Y.F., Summers B.A., Erb H.N., Appel M.J. (1997_a): *Borrelia burgdorferi* migrates into joint capsules and causes an up-regulation of interleukin-8 in synovial membranes of dogs experimentally infected with ticks. *Infection and Immunity* 65:1273-1285.

Straubinger R.K., Summers B.A., Chang Y.F., Appel M.J. (1997_b): Persistence of *Borrelia burgdorferi* in experimentally infected dogs after antibiotic treatment. *Journal of Clinical Microbiology* 35:111-116.

Straubinger R. (2000): PCR-Based quantification of *Borrelia burgdorferi* organisms in canine tissues over a 500-day postinfection period. *Journal of Clinical Microbiology* 38:2191-2199.

Sudler-Hofer Ch. (2000): Nachweis von Antikörpern gegen Leptospiren in der Schweizerischen Schaf-, Ziegen- und Schweinepopulation. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.

Tijssen P. (1985): Practice and theory of enzyme immunoassays. In: *Laboratory Techniques in Biochemistry and Molecular Biology*, Vol. 15. (R.H.Burdon, P.H. van Knippenberg) Elsevier Publishing, Amsterdam S. 385-421.

Tryggvason K., Pettersson E. (2003): Causes and consequences of proteinuria: the kidney filtration barrier and progressive renal failure. *Journal of Internal Medicine* 254:216-224.

Vaden S.L., Jensen W., Longhofer s., Simpson D. (2001): Longitudinal study of microalbuminuria in Soft-Coated Wheaten Terriers. *Journal of Veterinary Internal Medicine* 15:300.

Vaden S.L.V. (2003): Renal pathology for the veterinary nephrologist. In: Proceedings 21st ACVIM Forum, Charlotte. American College of Veterinary Internal Medicine, Lakewood, CO S. 777-778.

Von Weber A., Heim U., Schäfer R. (1991): Zum Vorkommen von Antikörpern gegen *Borrelia burgdorferi* bei Hunden einer Kleintierpraxis in Nordbayern. Berliner und Münchner Tierärztliche Wochenschrift 104:384-386.

Walther L.E., Hentschel H., Oehme A., Gudziol H., Beleites E. (2003): Die Lyme Borreliose – eine Ursache für „Hörsturz“ und „Vestibulärausfall“. Laryngo-Rhino-Otology 82:249-257.

Wang G., van Dam A.P., Schwartz I., Dankert J. (1999): Molecular typing of *Borrelia burgdorferi* sensu lato: taxonomic, epidemiological, and clinical implications. Clinical Microbiology Reviews 12(4):633-653.

Werner P. (1994): Anwendung molekulargenetischer Analysemethoden beim Berner Sennenhund und beim Neufundländer. Dissertation an der Veterinärmedizinischen Fakultät der Universität Zürich.

Wheeler D.C., Varghese Z., Moorhead J.F. (1989): Hyperlipidemia in nephrotic syndrome. American Journal of Nephrology 9:78-84.

White J.V., Olivier N.B., Reimann K., Johnson C. (1984): Use of protein-to-creatinine ratio in a single urine specimen for quantitative estimation of canine proteinuria. Journal of the American Veterinary Medical Association 185:882-885.

Wicki R., Sauter P., Mettler C., Natsch A.,ENZLER T., Pusterla N., Kuhnert P., Egli G., Bernasconi M., Lienhard R., Lutz H., Leutenegger C.M. (2000): Swiss Army survey in Switzerland to determine prevalence of *Francisella tularensis*, members of the *Ehrlichia phagocytophila* genogroup, *Borrelia burgdorferi* sensu lato, and tick-borne encephalitis virus in ticks. European Journal of Clinical Microbiology 19:427-432.

Wiedemann C., Milward F. (1999): Wirksamkeits- und Verträglichkeitsprüfung mit einem neuen Impfstoff gegen Lyme Borreliose beim Hund (Merilym®). Sonderdruck aus Tierärztlicher Umschau 5:242-249.

Wilske B. (2002): Review: Microbiological diagnosis in Lyme borreliosis. International Journal of Medical Microbiology 291:114-119.

Wittenbrink M., Failing K., Krauss H. (1996): Enzyme-linked immunosorbent assay and immunoblot analysis for detection of antibodies to *Borrelia burgdorferi* in dogs. The impact of serum absorption with homologous and heterologous bacteria. Veterinary Microbiology 48:257-268.

Wojakowski W., Gminski J., Siemianowicz K., Goss M. and Machalski M. (2000): The influence of angiotensin converting enzyme inhibitors and lipid peroxidation in sera and aorta of rabbits in diet-induced hypercholesterolemia. International Journal of Molecular Medicine 6(5):591-594.

Wormser G., Ramanathan R., Nowakowski J., McKenna D., Holmgren D., Visintainer P., Dornbush R., Singh B., Nadelmann R. (2003): Duration of antibiotic therapy for early Lyme disease. American College of Physicians 138:697-705.

Wright J.C., Chambers M., Mullen G., Swango L., D'Andrea G., Boyce A. (1997): Seroprevalence of *Borrelia burgdorferi* in dogs in Alabama, USA. Preventive Veterinary Medicine 31:127-131.

Yu L.P. Jr., Smith G.N. Jr., Brandt K.D., Myers S.L., O'Connor B.L., Brandt D.A. (1992): Reduction of the severity of canine osteoarthritis by prophylactic treatment with oral doxycycline. Arthritis and Rheumatology 35:1150-1159.

Zatelli A., Bonfanti U (2002): Qualitative determination of proteinuria by SDS-PAGE in the healthy dog. Journal of Veterinary Internal Medicine (Abstract) 16(3):389.

Zini E., Bonfanti U., Zatelli A. (2004): Diagnostic relevance of qualitative proteinuria evaluated by use of sodium dodecyl sulfate-agarose gel electrophoresis and comparison with renal histologic findings in dogs. *American Journal of Veterinary Research* 65(7):964-971.

Zore A., Ruzic-Sabljić E., Maraspin V., Cimperman J., Lotric-Furlan S., Pikelj A., Jurca T., Logar M., Strle F. (2002): Sensitivity of culture and polymerase chain reaction for the etiologic diagnosis of erythema migrans. *Wiener Klinische Wochenschrift* 114:606-609.

Lebenslauf

Name	Simone Katrin, Eichenberger
Geburtsdatum	28. November 1974
Geburtsort	Bern
Nationalität	CH
Heimatort	Trub BE

1981 – 1985	Primarschule Zollikofen
1985 – 1989	Neue Mädchenschule Bern
1989 – 1995	Freies Gymnasium Bern
1995	Abitur, Maturität Typ C

1995 – 2001	Studium der Veterinärmedizin an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern, Schweiz
-------------	--

2001	Staatsexamen an der Vetsuisse-Fakultät der Universität Bern, Schweiz
------	--

2002 – 2004	Dissertation, Klinik für Kleintiermedizin, Vetsuisse-Fakultät Zürich, Schweiz
-------------	---

2004 –	Tierklinik Sonnenhof AG, Derendingen
--------	--------------------------------------

5. Dezember 2005